

Synthese neuer 4-Azapallone als potenziell antitrypanosomale Wirkstoffe

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer

Doktorin der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Franziska Maiwald

aus Dessau

1. Referent:	Prof. Dr. Conrad Kunick
2. Referent:	Prof. Dr. Ingo Ott
eingereicht am:	16.10.2013
mündliche Prüfung (Disputation) am:	02.12.2013

Druckjahr 2014

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Tagungsbeiträge

Maiwald, F., Abad Dar, M., Erdmann, H., Benítez, D., Charquero, D., Preu, L.; Hölscher, C., Comini, M. A., Kunick, C.: 4-Azapauillone-chalcone-hybrides as antitrypanosomal agents. (Poster) DPhG-Jahrestagung, Freiburg (2013).

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von November 2010 bis Oktober 2013 am Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig unter der Anleitung von

Herrn Prof. Dr. Conrad Kunick,

dem ich an dieser Stelle für die Möglichkeit der Promotion und seine stetige Hilfsbereitschaft herzlich danken möchte.

Mein besonderer Dank gilt auch

Herrn Prof. Dr. Ingo Ott

für die Übernahme des Koreferats.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1. Trypanosomiasis	2
1.1.1. Afrikanische Schlafkrankheit.....	2
1.1.2. Chagas	10
1.2. Leishmaniose	14
1.3. Target.....	18
1.3.1. Trypanothionsystem.....	19
2. Zielsetzung	25
3. Synthesen	27
3.1. Synthese des 6,7,8,9-Tetrahydro-5 <i>H</i> -pyrido[2,3- <i>b</i>]azepin-5,8-dions (30).....	27
3.1.1. Synthese des 2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylesters (27)	27
3.1.2. Synthese des 2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylesters (28).....	28
3.1.3. Synthese des 5-Hydroxy-8-oxo-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -pyrido[2,3- <i>b</i>]azepin-6-carbonsäureethylesters (29).....	30
3.1.4. Synthese des 6,7,8,9-Tetrahydro-5 <i>H</i> -pyrido[2,3- <i>b</i>]azepin-5,8-dions (30) .	30
3.2. Synthese unterschiedlich substituierter 7,12-Dihydropyrido[2',3':2,3]azepino-[4,5- <i>b</i>]indol-6(5 <i>H</i>)-one	31
3.3. Umsetzungen der 9-Iod- bzw. 11-Iod-4-azapauillone (21m bzw. 21q) mittels Heck-Reaktion	45
3.3.1. Umsetzung des 9-Iod-4-azapauillons (21m)	46
3.3.2. Umsetzung des 11-Iod-4-azapauillons (21q)	51
3.4. Umsetzung von 9-Hydroxy-4-azapauillon (21v)	54

3.4.1.	Umsetzung mit 1,3-Dibrompropan und Morpholin.....	54
3.4.2.	Umsetzung mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholin	57
3.5.	Synthese neuer substituierter Paullone	58
4.	Biologische Evaluierung	62
4.1.	Zytotoxizitätsmessung	62
4.2.	Proliferationsassays an trypanosomalen Parasiten	63
4.2.1.	MTT-Assay an <i>T. cruzi</i> -Epimastigoten	63
4.2.2.	Durchflusszytometrieassay an <i>T. b. brucei</i> -Parasiten	63
4.3.	Enzymaktivitätsmessungen an <i>TbTryS</i> , <i>TcTryS</i> und <i>LTryS</i>	67
5.	Zusammenfassung	68
6.	Summary	71
7.	Experimenteller Teil.....	73
7.1.	Allgemeine Angaben	73
7.2.	Synthesen	76
7.3.	Biologische Testung	148
7.3.1.	Zytotoxizitätsmessungen	148
7.3.2.	Proliferationsassays an trypanosomalen Parasiten	150
7.3.3.	Enzymaktivitätsmessungen an <i>TbTryS</i> , <i>TcTryS</i> und <i>LTryS</i>	154
8.	Literatur	159
Anhang	172

Abkürzungsverzeichnis

2-ME	2-Mercaptoethanol
ACN	Acetonitril
AcOH	Eisessig
ADP	Adenosindiphosphat
aliphat.	aliphatisch
APx	Ascorbat-abhängige Peroxidase
Asc	Ascorbat
ATP	Adenosintriphosphat
<i>C.</i>	<i>Crithidia</i>
Cdc	<i>Cell division cycle</i>
CDK	Cyclin-abhängige Kinase
CRK	Cdc2-verwandte Proteinkinase
Cys	Cystein
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan/Methylenchlorid
dhAsc	Dehydroascorbat
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>d</i> ₆ -DMSO	Deuteriertes DMSO
DND <i>i</i>	Drugs for Neglected Disease initiative
EE	Ethylacetat
FCS	Fetales Kälberserum
FPPS	Farnesyl-Diphosphat-Synthase
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
GPx	Glutathionperoxidase
GS	Glutathionsynthetase

GSH	Glutathion
GSK	Glykogen-Synthase-Kinase
GSpd	Glutathionylspermidin
GSpdS	Glutathionylspermidinsynthetase
GSSG	Glutathiondisulfid
HAT	Humane Afrikanische Trypanosomiasis
Hex	<i>n</i> -Hexan
HMI	Hirumi's Modified Iscove's Medium
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IR	Infrarot
konz.	konzentriert
<i>L.</i>	<i>Leishmania</i>
LG	L-Glutamin
<i>L. m.</i>	<i>Leishmania major</i>
LPS	Lipopolysaccharid
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MS	Massenspektrometrie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
NADP	Nicotinsäureamidadenindinukleotidphosphat
NADPH	Reduzierte Form des Nicotinsäureamidadenindinukleotidphosphats
NECT	Nifurtimox-Eflornithin-Kombinationstherapie
NMR	Kernresonanzspektroskopie
ODC	Ornithindecaboxylase
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PE	Petrolether
PPA	Polyphosphorsäure
PS	Penicillin und Streptomycin
RR	Ribonukleotidreduktase
RT	Raumtemperatur
Schmp.	Schmelzpunkt
SDS	Natriumdodecylsulfat
SpdS	Spermidinsynthase

<i>T.</i>	<i>Trypanosoma</i>
<i>T. b.</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>
TBME	<i>tert</i> -Butylmethylether
THF	Tetrahydrofuran
t_M	Totzeit
t_N	Nettoretentionszeit
TryR	Trypanothionreduktase
TryS	Trypanothionsynthetase
$T(SH)_2$	Trypanothion
TS_2	Trypanothiondisulfid
TXN	Tryparedoxin
TXNPx	Tryparedoxinreduktase
UV	Ultraviolett
WHO	Weltgesundheitsorganisation
Zers.	Zersetzung

1. Einleitung

„Am Anfang leiden die Betroffenen unter Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen. Doch was zunächst wie eine Grippe daherkommt, kann auch die tödliche Schlafkrankheit sein. Sie ist eine von 17 Krankheiten, die die Weltgesundheitsorganisation (WHO) in ihre Liste der so genannten „vernachlässigten Tropenkrankheiten“ aufgenommen hat.“¹

Von den so genannten „vernachlässigten“ 17 Tropenkrankheiten sind 14 in Afrika zu finden. Einige treten sogar ausschließlich in Afrika auf.² Bei der Afrikanischen Schlafkrankheit handelt es sich um eine Krankheit, die durch protozoische Parasiten der Ordnung Kinetoplastidae übertragen wird. Parasiten dieser Ordnung sind außerdem Auslöser der Amerikanischen Trypanosomiasis, auch Chagas genannt, und der Leishmaniose.

Vor 100 Jahren stellte die Entwicklung neuer Medikamente gegen die Schlafkrankheit einen Schwerpunkt der pharmazeutischen Industrie dar. Eine Handvoll Arzneimittel waren das Ergebnis dieser Forschungen bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts. Seitdem hat sich nicht viel getan.³ Neben den schwerwiegenden Nebenwirkungen, die viele dieser Arzneimittel verursachen, stellen auch die Darreichungsformen und die hohen Kosten der Herstellung große Nachteile dar. Daher sind neue Medikamente dringend erforderlich, um die Lebensqualität der betroffenen Menschen zu verbessern.

Einige der eingesetzten Medikamente waren zwischenzeitlich vom „Aussterben“ bedroht, sei es wegen der Kosten (Pentamidin), einer unterbrochenen Produktion (Eflornithin) oder einer geplanten Stilllegung der Produktion (Nifurtimox, Suramin und Melarsoprol).⁴ Die Entwicklung und Herstellung bekannter und neuer Medikamente gegen Tropenkrankheiten stellt für die Pharmaindustrie keinen gewinnbringenden Markt dar.⁵ Im Jahr 2000 wurden nur 0.1% der weltweiten Investitionen aus dem Gesundheitsbereich für die Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Behandlung von Tropenkrankheiten aufgewendet.⁶

In den vergangenen Jahren wurde bereits viel getan. Humanitäre Organisationen setzen sich immer mehr ein und starten Kampagnen, in denen beispielsweise der faire Zugang zu Medikamenten thematisiert wird. Die WHO stellt die Produktion der benötigten Wirkstoffe in einer Vereinbarung mit Aventis sicher.^{3, 4, 7} Dennoch ist die Entwicklung neuer Therapeutika nicht nur wegen der sich bildenden Resistenzen gegenüber den eingesetzten Wirkstoffen wichtig.

Die folgenden Abschnitte stellen die Krankheitsbilder und die aktuelle Medikation der Afrikanischen und Amerikanischen Trypanosomiasis sowie der Leishmaniose vor.

1.1. Trypanosomiasis

Sowohl die Afrikanische Schlafkrankheit als auch die Chagas-Krankheit werden von Trypanosomen verursacht. Die Erreger der Afrikanischen Schlafkrankheit, die auch humane afrikanische Trypanosomiasis (HAT) genannt wird, sind *Trypanosoma brucei gambiense* (Westafrikanische Schlafkrankheit) und *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Ostafrikanische Schlafkrankheit). Die Chagas-Krankheit tritt in Südamerika auf und wird durch *Trypanosoma cruzi* hervorgerufen. Zwar handelt es sich bei den Erregern der beiden Krankheiten um Trypanosomen, jedoch gibt es Unterschiede sowohl zwischen den Erregern als auch den Erkrankungen.^{5, 8} In den folgenden Abschnitten werden beide Krankheitsbilder beschrieben.

1.1.1. Afrikanische Schlafkrankheit

Lange Zeit war die Afrikanische Schlafkrankheit unbekannt für die Europäer. Erst als die Kolonialmächte nach Afrika kamen und später viele Sklaven der merkwürdigen Seuche erlagen, war das Interesse an der Aufklärung geweckt. Der Militärarzt Sir D. Bruce fand im Jahr 1894 in einem Blutausstrich eines infizierten Rindes einen Einzeller, der sich mit einer Geißel fortbewegte. Der Übertragungsmechanismus der *Trypanosoma brucei* wurde erst im Jahr 1904 von R. M. Forde und J. E. Dutton aufgeklärt. Die Tsetsefliege beherbergt den Parasiten, der beim Stich dieser Zungenfliege durch den Speichel auf den Menschen und z.B. Rinder oder Antilopen übertragen wird.⁸⁻¹⁰

Es sind drei Unterarten der *Trypanosoma brucei* (*T. b.*) bekannt:

1) *T. b. gambiense*: Sie treten gehäuft in Zentral- und Westafrika auf. Bei den Überträgern handelt es sich um die Glossinen der *palpalis*-Untergattung^{8, 11}. Diese fühlen sich in feuchten Biotopen besonders wohl. Der Mensch stellt den Hauptwirt dieser Subspezies dar. Schweine und Hunde dienen eher als Nebenwirte. Infektionen dieser Tiere und anderer Huftiere sind seltener.¹² Das Krankheitsbild, das von den *T. b. gambiense* ausgelöst wird, zeigt sich als eine chronische Infektion. Der Krankheitsverlauf lässt sich in zwei Phasen teilen, die im Durchschnitt bis zu 2 Jahre andauern.¹³

2) *T. b. rhodesiense*: Das Vorkommen dieser Subspezies beschränkt sich auf Ost- und Südafrika. Die Glossinen der Untergattung *morsitans*, die die Überträger des Erregers darstellen, sind an trockenere Gefilde wie die Savanne angepasst.^{8, 11} Anders als bei den *T. b. gambiense* sind Huftiere wie Schafe, Rinder, Buschböcke und Antilopen die Hauptwirte.¹² Der Mensch kann zwar als Wirt dienen, dies kommt allerdings seltener vor. Bei der von den *T. b. rhodesiense* ausgelösten Krankheit handelt es sich um eine akute, aggressivere Form. Die Infektion kann bereits nach einigen Wochen bis Monaten zum Tod führen.

3) *T. b. brucei* ist der Auslöser der Naganaseuche, die nur bei Tieren auftritt, und der für den Menschen nicht pathogen ist.⁵

Im Jahr 2009 fiel die Anzahl der Neuinfektionen mit Schlafkrankheit erstmals unter 10 000. Dieser Trend wurde auch im Folgejahr bestätigt. Momentan geht die WHO von 30 000 betroffenen Menschen aus.¹⁴ Die Drugs for Neglected Disease initiative (DNDi) berichtet von geschätzten 20 000 Infizierten und von einem Infektionsrisiko in 36 Ländern.¹⁵ Auch der Schaden der Viehzüchter sollte nicht unterschätzt werden. Es wird davon ausgegangen, dass jährlich durch den Verlust von ca. 3 Millionen Rindern eine Einbuße von 5 Milliarden US-Dollar entsteht.^{16, 17}

Der Krankheitsverlauf der Afrikanischen Schlafkrankheit lässt sich in zwei Phasen teilen: In der ersten Phase, der hämolytischen Phase, hält sich der Erreger zunächst in der Nähe der Einstichstelle auf. Es bilden sich knotenartige Schwellungen, die sogenannten Trypanosomenschanke.^{5, 18} Danach gelangt der Erreger extrazellulär ins Blut- und Lymphsystem. Der Patient leidet unter Fieberschüben, Kopf- und Gliederschmerzen. Anschließend kann es durch die Infektion zu starken Schwellungen der Lymphknoten kommen.^{9, 18} Häufig treten auch Gefäßentzün-

dungen auf, die sich auf das Herz auswirken können. Dies kann zum Tod durch Herzversagen führen.⁸ Bei der zweiten Phase handelt es sich um die meningo-enzephalitische Phase. Hierbei wird das zentrale Nervensystem befallen. Dabei kommt es zu einer fortschreitenden Meningoenzephalitis, die ohne Behandlung zum Tod führt.¹⁸ Schwere neurologische Störungen, wie Sprach- und Koordinationsausfälle, die in einem übersteigerten Schlafbedürfnis münden, charakterisieren das Endstadium dieser Krankheit.^{8, 9, 18}

Die Trypanosomen gehören zur Familie der Trypanosomatidae und zur Ordnung der Kinetoplastida. Zu den Trypanosomatiden gehören nicht nur die *T. brucei*-Unterarten, sondern auch *T. cruzi* und die Leishmanien. Auf diese wird noch in den folgenden Abschnitten eingegangen. Die spindelförmigen Blut- oder Gewebeparasiten besitzen einen Kern, einen Kinetoplasten und eine Geißel.¹¹ Bemerkenswert sind die morphologischen Veränderungen während des Entwicklungsprozesses. Um die optimale Vermehrung in zwei unterschiedlichen Wirten, sowohl im Wirbeltier als auch im Insekt, zu gewährleisten, ist dieser Formenwandel nötig.⁸

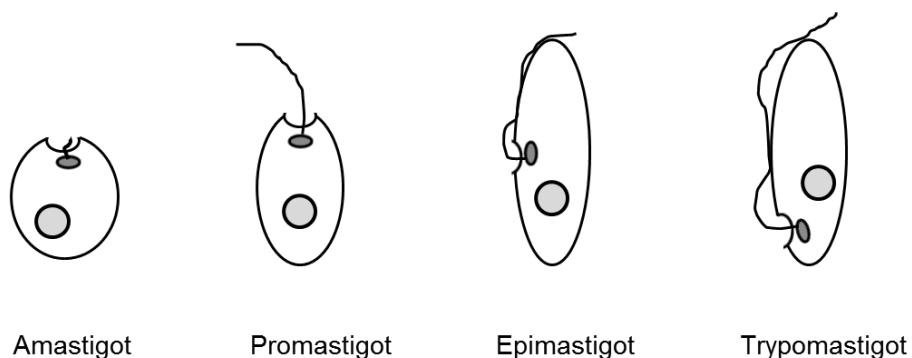


Abbildung 1: Übersicht der Entwicklungsformen der Kinetoplastida.

Erklärung der Bestandteile: Kern: hellgrau; Kinetoplast: dunkelgrau; Geißel: schwarze Linie

Die Abbildung 1 zeigt die Entwicklungsformen der Trypanosomatiden, um die verschiedenen morphologischen Formen besser verstehen zu können. Nicht alle Spezies durchlaufen bei ihrer Morphogenese alle in der Abbildung 1 dargestellten Formen.

Der amastigote Typ zeichnet sich durch eine rundliche Form aus, bei der der Kinetoplast, aus dem die Geißel entspringt, sich vor dem Zellkern befindet. Eine Geißel ist vorhanden, allerdings nur intrazellulär.¹⁹ Diese Form tritt intrazellulär im Wirbeltier auf und kommt nicht bei *T. brucei* vor.

Die promastigote Form weist einen länglichen Körper auf. Der Basalkörper, aus dem die freie Geißel entspringt, liegt weit vor dem Kern.^{19, 20} Dieser Typ tritt nur bei *Leishmania* und dort nur im Insektenwirt auf.

Der Epimastigot besitzt ebenfalls eine längliche Form. Der Kinetoplast, aus dem die Geißel entspringt, befindet sich vor dem Zellkern. Die Geißel legt sich seitlich an die Zelle an. Es bildet sich eine Membran zwischen der Geißel und der Zelle aus.¹⁹⁻²¹ Bei den Leishmanien ist diese Form nicht vorhanden. Bei den Trypanosomen tritt diese Form lediglich im Insektenwirt auf.

Der Trypomastigot zeichnet sich durch einen langgestreckten Körper aus. Der Basalkörper, aus dem die Geißel entspringt, ist hinter dem Zellkern positioniert.¹⁹⁻²¹ Die Geißel legt sich seitlich an den Körper. Sie treten sowohl im Insekten- als auch im Wirbeltierwirt auf. Auch diese Form tritt nicht bei Leishmanien auf.

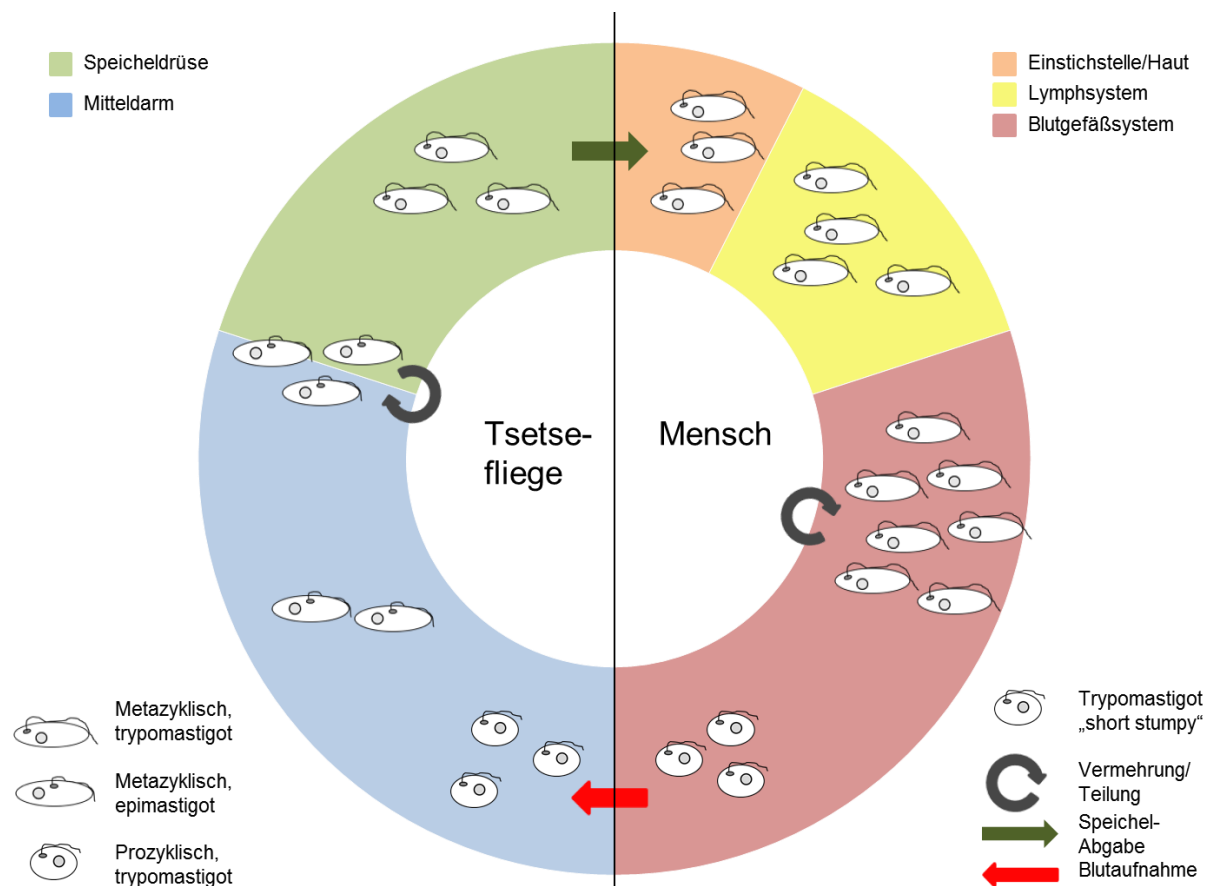


Abbildung 2: Lebenszyklus von *Trypanosoma brucei*.

Beim Stich der Tsetsefliege eines infizierten Menschen oder Tiers nimmt die blutsaugende Fliege die Trypanosomen auf. Bei der aufgenommenen Blutstromform

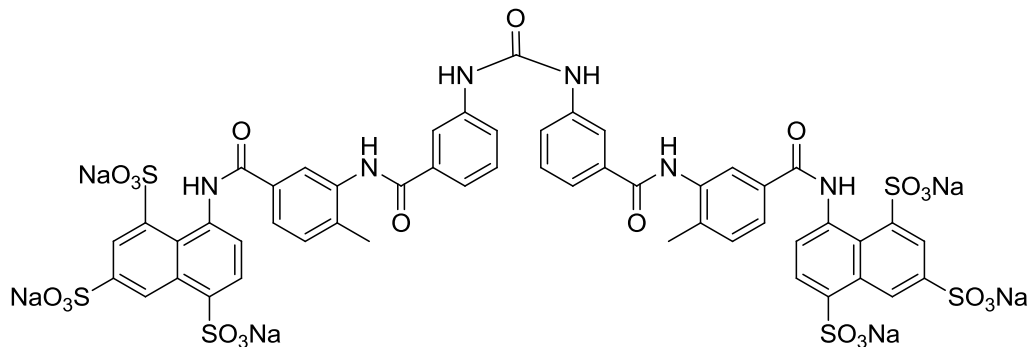
des Wirbeltierwirts handelt es sich um die prozyklische trypomastigote Form. Diese ist eine nicht-infektiöse, teilungsaktive Form im Mitteldarm der Fliege. Beim Verlassen des Mitteldarms wandelt sich die prozyklische, trypomastigote Form in den metazyklischen Epimastigoten um. Diese nicht-infektiöse Form lokalisiert sich in der Speicheldrüse der Fliege und entwickelt sich weiter zu den metazyklischen Trypomastigoten. Die in diesem Stadium befindlichen Trypomastigoten sind infektiös und können bei einer Blutmahlzeit der Fliege auf beispielsweise den Menschen übertragen werden. In den zirka 2 Wochen, die die Trypomastigoten an der Einstichstelle verweilen, vermehren sich diese durch Längsteilung und wandern anschließend zum Lymphsystem. Diese sogenannte „long slender“-Form ist sehr beweglich und vermehrt sich weiterhin. Nach Erreichen einer gewissen Dichte im Blut verändert sich die äußere Form zur gedrungenen, „short stumpy“-Form. Diese Form der Trypomastigoten teilt sich nicht weiter und ist infektiös für die Fliege. Nach einem Stich einer Tsetsefliege beginnt der Kreislauf erneut (siehe Abbildung 2). Die infizierte Fliege gibt über ihre gesamte Lebensdauer den Erreger weiter.^{8, 9, 11, 12, 22}

Die Behandlungsmöglichkeiten der Afrikanischen Schlafkrankheit sind seit Jahren unbefriedigend. Die angewendeten Medikamente sind sowohl für die erste als auch für die zweite Phase oft nicht oral verfügbar, meist toxisch und nicht immer wirksam.²² In einem kurzen Abriss werden die zurzeit eingesetzten Wirkstoffe vorgestellt. Anschließend folgt die Vorstellung potenzieller neuer Wirkstoffkandidaten.

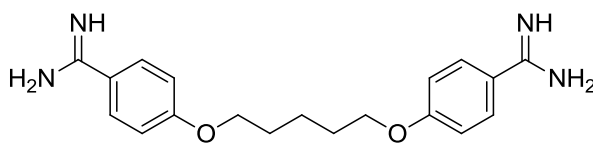
Suramin (1) kam im Jahr 1922 zum ersten Mal zum Einsatz. Es wird durch intravenöse Injektionen zur Behandlung der ersten Phase verabreicht. Diese werden typischerweise in 5 Injektionen alle 3 – 7 Tage über 4 Wochen gegeben. 99% des Medikamentes binden an Serumproteine und weisen eine hohe Halbwertszeit von 41 – 78 Tagen auf. Die Permeabilität durch die Bluthirnschranke ist sehr gering, daher ist der Einsatz auf die erste Phase beschränkt. Es bleibt offen, wie Suramin auf die Trypanosomen wirkt. Resistenzen sind rar. Bei den bekannten Nebenwirkungen handelt es sich um Pyrexia, reversible Nephrotoxizität, Nausea, Nesselfieber, Neuropathie und Anämie.¹³

Pentamidin (2) wird seit über 60 Jahren zur Behandlung der ersten Phase der Infektion mit *T. b. gambiense* eingesetzt. In der Regel wird eine intramuskuläre Injektion über 7 Tage mit einer Dosis von 4 mg/kg verabreicht. Die IC₅₀-Werte liegen in Größenordnungen zwischen 1 – 10 nM. Wie es die Trypanosomen tötet ist nicht

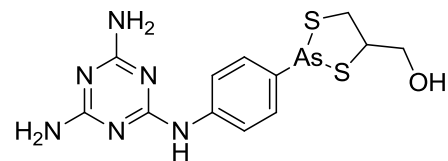
ganz sicher. Allerdings ist bekannt, dass Diamidine an die DNA binden und mitochondriale Dysfunktionen hervorrufen. Leider ist dieses Medikament nicht oral verfügbar und weist nur eine minimale Gehirnpermeation auf. Schmerzen an der Einstichstelle, Nephrotoxizität, Leukozytopenie und Leberenzymabnormalitäten sind bekannte Nebenwirkungen wie auch das Risiko der Hypoglykämie.¹³



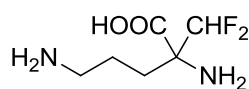
Suramin (1)



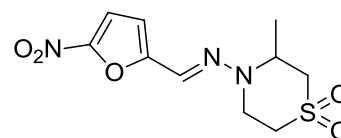
Pentamidin (2)



Melarsoprol (3)



Eflornithin (4)



Nifurtimox (5)

Abbildung 3: Medikamente zur Behandlung der Afrikanischen Schlafkrankheit.⁶

Melarsoprol (3) ist eine organische Arsenverbindung, die 1949 eingeführt wurde.¹³ Es handelt sich dabei um eines der gesundheitsschädlichsten zugelassenen Medikamente. 5 – 10% der Patienten, denen Melarsoprol verabreicht wird, erleiden eine Enzephalopathie.⁵ Gleichwohl handelt es sich bei diesem Wirkstoff um den effektivsten und am meisten genutzten zur Behandlung der zweiten Phase der Afrikanischen Schlafkrankheit.^{9, 12} Es werden intravenöse Injektionen als 3.6%ige Lösung in Propylenglycol meist über 10 Tage verabreicht. Es ist nicht genau bekannt, wie die Arsenverbindungen die Trypanosomen töten. Melarsoprol wandelt sich *in vivo*

schnell zum aktiven Metaboliten Melarsenoxid um. Die Nebenwirkungen sind ernst. Fieberkrämpfe und neurologische Folgeerkrankungen können zum Koma oder Tod führen. Andere Nebenwirkungen äußern sich in Fieber, Juckreiz, Kopfschmerz und Thrombozytopenie. Eine Verabreichung mit Corticosteroiden, wie z.B. Prednisolon, reduziert das Auftreten einer reaktiven Enzephalopathie.⁹ Weiterentwicklungen bezüglich der Löslichkeit und folglich auch zur oralen Applikation durch Komplexbildung mit Cyclodextrinen bilden einen aktuellen Forschungsschwerpunkt.^{23, 24}

Eflornithin (**4**) ist ein Analogon des Ornithins.¹³ Es inhibiert die Ornithin-Decarboxylase (ODC). Dieses Medikament ist weitaus wirksamer gegen *T. b. gambiense* als gegen *T. b. rhodesiense*.⁹ Die Spezifität des Medikamentes gegen Trypanosomen resultiert aus der unterschiedlich schnellen Proteinsynthese beim Wirt und den Erregern.²⁵ Eine gewöhnliche Kur sieht eine Injektion von 100 mg/kg in 6 h-Intervallen für 14 Tage vor. Der IC₅₀-Wert der Wachstumsinhibition ist mit 81 – 693 µM *in vitro* relativ schwach verglichen mit anderen zugelassenen Medikamenten. Allerdings zeigt es keine zytotoxischen Effekte. Daher ist *in vivo* ein funktionstüchtiges Immunsystem zur Eliminierung der Parasiten erforderlich.²⁵ Nebenwirkungen können sein: Fieber, Kopfschmerzen, Bluthochdruck, Tremor, periphere Neuropathie und gastrointestinale Probleme.

Tabelle 1: Übersicht der eingesetzten Wirkstoffe in beiden Phasen der Afrikanischen Schlafkrankheit.²²

	First-Line-Behandlung	Second-Line-Behandlung
Erste Phase		
<i>T. b. rhodesiense</i>	Suramin (iv)	Pentamidin (im)
<i>T. b. gambiense</i>	Pentamidin (im)	Suramin (iv)
Zweite Phase		
<i>T. b. rhodesiense</i>	Melarsoprol (iv)	-
<i>T. b. gambiense</i>	Eflornithin (iv) und Nifurtimox (oral)	Melarsoprol (iv)

iv = intravenös, im = intramuskulär

Die Nifurtimox-Eflornithin-Kombinationstherapie (NECT) hat sich als eine geeignete Kombination bekannter trypanozider Wirkstoffe zur Behandlung der zweiten Phase herausgestellt.¹³ Diese Therapie ist der einzige Fortschritt in den letzten 25 Jahren.²⁶ Zwar handelt es sich bei Nifurtimox (**5**) um ein zugelassenes Medikament gegen Chagas, dennoch verbessert es auch bei HAT in Kombination mit Eflornithin die

Effizienz der Therapie und reduziert das Risiko der Resistenzenbildung. Eflornithin wird durch intravenöse Injektionen mit einer Dosis von 200 mg/kg alle 12 h über 7 Tage verabreicht. Nifurtimox wird hingegen dreimal täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen oral gegeben. Ein großer Vorteil der Kombinationstherapie ist hierbei die Kosteneinsparung, die trotz gleicher Wirksamkeit über die kürzere Einnahmezeit des Eflornithins im Vergleich zur Eflornithin-Monotherapie erreicht wird. Interessanterweise wirken Eflornithin und Nifurtimox nicht synergistisch. Verglichen mit der Eflornithin-Monotherapie kommt es bei Patienten der Kombinationstherapie zu einer erhöhten Nebenwirkungsrate, wobei Tremor und gastrointestinale Störungen beobachtet werden.¹³ Tabelle 1 zeigt eine Übersicht der Medikamente und die Phase, in der sie eingesetzt werden.

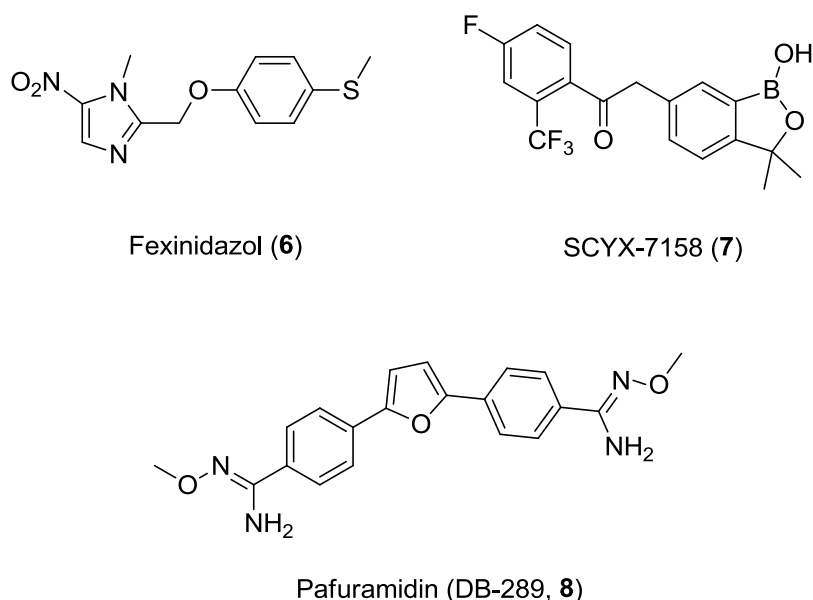


Abbildung 4: Klinisch geprüfte Wirkstoffe gegen HAT.¹³

Fexinidazol (**6**) ist ein 2-substituiertes 5-Nitroimidazol, welches ursprünglich von der Firma Hoechst in den 1970er Jahren als Teil eines antiinfektiösen Arzneimittel-Entwicklungsprogramms synthetisiert wurde¹³. Im Jahre 2007 wurde es durch die DNDi während eines Projekts wiederentdeckt. Es befindet sich zurzeit in der klinischen Testphase II. Fexinidazol weist einen IC₅₀-Wert von 0.48 - 0.82 µg/mL gegen *T. b. rhodesiense* auf.²⁶ Die antitrypanosomale Aktivität ist gegenüber der von Melarsoprol (0.003 µg/mL) vergleichsweise niedrig. Allerdings zeigt Fexinidazol eine geringere *in vitro* Toxizität als Melarsoprol. Fexinidazol dient als Prodrug und wird zunächst in ein Sulfoxid und anschließend in ein Sulfon-Derivat metabolisiert. Ein

weiterer Vorteil von Fexinidazol ist die orale Verfügbarkeit. Ein mögliches Einnahmeschema könnte in einer 14-tägigen Kur bestehen. Fexinidazol wäre das erste oral applizierbare Medikament für die zweite Phase der Afrikanischen Schlafkrankheit sowohl bei *T. b. gambiense* als auch *T. b. rhodesiense*.²⁶ Auch ein Einsatz zur Behandlung der ersten Phase ist denkbar. Dadurch müssten zur Feststellung der Phase keine schmerzhaften Lumbalpunktionen durchgeführt werden.

SCYX-7158 (**7**) wurde im Rahmen der Optimierung von Benzoxaborolen synthetisiert. Besonders die pharmakokinetischen Eigenschaften überzeugten. Im Maus-Modell zeigte SCYX-7158 eine 100%ige Heilung nach einer oralen Applikation von 25 mg/kg über einen Zeitraum von 7 Tagen.²⁷ Bei *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen konnten trypanozide Aktivitäten gegen *T. b. brucei*, *T. b. gambiense* und *T. b. rhodesiense* gezeigt werden. Weitere Tests ergaben, dass sich SCYX-7158 als ein mögliches oral applizierbares Medikament der zweiten Phase herausstellen könnte.¹³ Dieses gilt es nun in der klinischen Phase zu untersuchen.^{22, 23, 27}

Pafuramidin (DB-289, **8**), ein Medikament für die akute Phase der HAT, scheiterte auf Grund von Leber- und Nierentoxizität kurz vor Ende der dritten klinischen Phase. Dennoch besteht weiterhin Interesse an Diamidin-Derivaten.^{22, 23, 25}

Zur Behandlung der Naganaseuche sind wenige Wirkstoffe bekannt, die aber auch hohe Kosten und Resistenzen hervorrufen. Die Entwicklung von Impfstoffen stellt eine vorbeugende Maßnahme zur Eindämmung der Seuche dar. Daher werden dringend neue Medikamente benötigt um den damit verbundenen wirtschaftlichen Schaden zu minimieren.¹⁷

1.1.2. Chagas

Der brasilianische Arzt und Wissenschaftler C. Chagas ging im Jahr 1907 nach Lassance in der Provinz Minas Gerais, um dort eine Malaria-Epidemie zu bekämpfen. Jedoch war die Malaria nicht das größte Problem. Die arme Bevölkerung klagte über Insekten, deren nächtlicher Stich zu einer Erkrankung führte. Chagas untersuchte den Kot der Raubwanze, die er als Überträger der Krankheit in Verdacht hatte. In den Ausscheidungen der Raubwanze fand Chagas im Jahr 1909 begeißelte

Einzeller. Daraufhin schickte er seinem Mentor O. Cruz ein paar Exemplare der Wanze. Dieser bestätigte, dass es sich um Trypanosomen im Kot der Raubwanze handelte. Chagas nannte den neuen Parasiten seinem Lehrer Cruz zu Ehren *Trypanosoma cruzi*.^{8, 10, 28} Rund einhundert Jahre nach der Entdeckung der Krankheit durch C. Chagas definiert die WHO die Krankheit Chagas als eine der bedeutendsten infektiösen Krankheiten der armen Bevölkerung.²⁹

Die Chagas-Krankheit wird ausgelöst durch den Parasiten *Trypanosoma cruzi*. Zurzeit geht man von 8 Millionen Infizierten, hauptsächlich in Lateinamerika, aus. In den letzten Jahrzehnten hat sich das Gebiet der Infektionen von Mexiko bis hin zu den USA und Kanada erweitert.³⁰ Die Raubwanze, die auch „kissing bug“ genannt wird, ist der Überträger der Flagellaten *T. cruzi*. Jedoch wurde in jüngerer Zeit auch festgestellt, dass Bluttransfusionen, angeborene Übertragungen, Organspenden, Laborunfälle oder die Nahrungsaufnahme kontaminierter Lebensmittel als Quellen der Übertragung auszumachen sind.³¹⁻³⁴ Die Raubwanze gehört zur Subfamilie der *Triatominae*. Von ihnen sind lediglich drei Spezies an der Übertragung beteiligt. *Triatoma infestans* ist der wichtigste und am weitesten verbreitete Vektor der Chagas-Krankheit in Südamerika. Diese Spezies hat bereits peridomestische Habitate erobert.^{11, 31} *Rhodnius prolixus* wurden in zentralamerikanischen Ländern wie Honduras und Nicaragua und außerdem auch in Venezuela und Kolumbien gefunden. *Triatoma dimidiata* hat ein ähnliches Vorkommen wie *R. prolixus*, allerdings bewohnen diese auch die nördlichen Teile Mexikos.³¹ Auf Grund des anwachsenden Tourismus und der zunehmenden Migration breitet sich die Krankheit auch in europäischen Ländern wie Spanien und Italien aus.³⁴

Nach der Infektion mit dem Parasiten verläuft die Chagas-Krankheit meist symptomlos oder mit milden Symptomen wie beispielsweise Fieber und Unpässlichkeit. Diese sogenannte akute Phase kann einige Wochen oder Monate andauern. Wird die Krankheit in diesem Stadium nicht behandelt, kann sie sich manifestieren. In der chronischen Phase sind zwar fast 70% der Infizierten symptomlos, die anderen 30% zeigen jedoch oft nach einer Latenzzeit von Dekaden Symptome, die lebensbedrohliche Auswirkungen haben können. In fast 90% dieser Fälle ist das Herz betroffen. Dies äußert sich durch das Auftreten von Kardiomyopathien mit Arrhythmien, Herzfehlern und häufig auch durch einen plötzlichen Tod. Des Weiteren klagen die Patienten über gastrointestinale Beschwerden oder neurologische Funktionsstörungen.³³

Die infektiöse Form der *Trypanosoma cruzi*, die sogenannte metazyklische trypomastigote Form, zirkuliert frei nach Eindringen in den Menschen. Dort siedeln sich die Trypomastigoten in phagozytischen und nicht-phagozytischen Zellen an. In den Zellen erfolgt eine Umwandlung in die amastigote Form, die in der Lage ist sich zu replizieren. Nach der Re-Transformation der Amastigoten in die infektiöse trypomastigote Form folgt die Zelllyse und so gelangen die Erreger schließlich in den Blutkreislauf. Aus dem mit Trypanosomen kontaminierten Blut kann die Raubwanze bei ihrer Blutmahlzeit die Parasiten aufnehmen. Im Mitteldarm werden die Trypomastigoten in die epimastigote Form umgewandelt. Dieser Typ ist besser an das Überleben im Insektenwirt angepasst und trägt zur Vermehrung bei. Die Epimastigoten transformieren sich im hinteren Teil des Darms wieder in die infektiöse Form, den Trypomastigoten. Die Erreger werden mit dem Kot ausgeschieden und gelangen durch Einreiben in die Wunde des Stiches oder andere kleine Verletzungen in den Wirbeltierwirt.^{11, 32, 33}

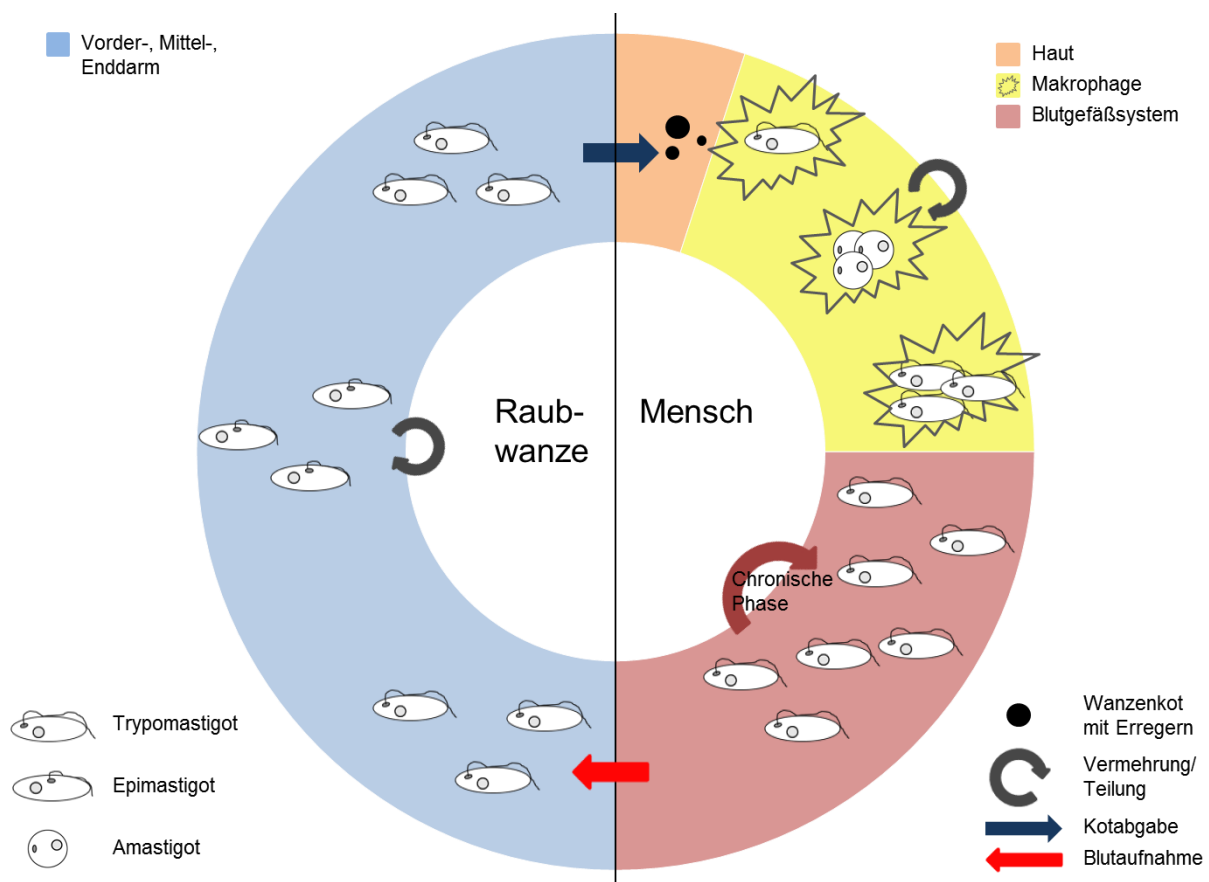


Abbildung 5: Lebenszyklus von *Trypanosoma cruzi*.

Die eingesetzten Medikamente zur Behandlung von Chagas wurden in den 1960er und 1970er Jahren eingeführt.^{29, 35} Seit dieser Zeit wurden keine neuen Wirkstoffe entwickelt oder zugelassen. Bei den beiden Wirkstoffen handelt es sich um Nifurtimox (**5**) und Benznidazol (**9**), die in Abbildung 6 dargestellt sind. In Abbildung 7 sind zwei in der klinischen Phase befindliche Substanzen dargestellt.

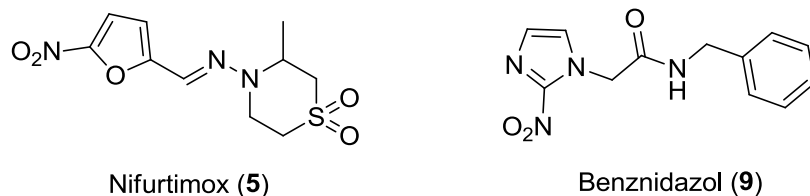


Abbildung 6: Medikamente zur Behandlung von Chagas.

Die verwendeten Medikamente heilen ungefähr 80% der Patienten, die an der akuten Phase der Chagas-Krankheit leiden, und 20% der chronischen Fälle. In der Regel erfolgt eine Behandlung über 60 Tage mit 2 - 3 Dosen pro Tag. Leider sind diese Wirkstoffe nicht für alle Menschen erhältlich. In Brasilien zum Beispiel ist Nifurtimox nicht verfügbar und die Verteilung von Benznidazol ist auf wenige spezialisierte Krankenhäuser beschränkt. Der Einsatz dieser Medikamente verursacht schwere Nebenwirkungen und kann Resistenzen gegen *T. cruzi*-Stämme hervorrufen. Die häufigsten Nebenwirkungen sind Gewichtsverlust, Anorexia, Nausea, Diarrhöe, periphere Polyneuropathie und allergische Hautreaktionen.³⁵

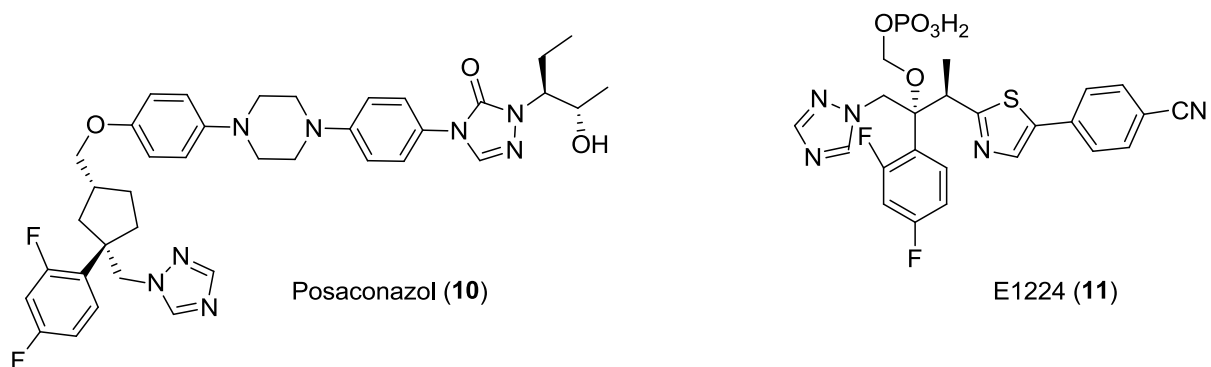


Abbildung 7: Kandidaten der klinischen Studien.³⁵

Auf Grund des erweiterten Wissens um die Physiologie und Biochemie des Agens werden sowohl neue natürliche und synthetische Substanzen als auch Wirkstoffe, die sich auf dem Markt befinden, biologischen Testungen gegen *T. cruzi* unterzogen.

Dabei wurden Fungizide identifiziert, die eine antitrypanosomale Aktivität aufweisen.³⁵ Eine solche Verbindung ist das Posaconazol (**10**), welches sich zurzeit in der zweiten klinischen Phase befindet. Ebenfalls in der zweiten klinischen Phase für die chronische Form befindet sich E1224 (**11**), ein Prodrug des Ravuconazols.^{36, 37}

Da die sozialen Lebensbedingungen der Menschen in den Entwicklungsländern eine entscheidende Rolle bei der Verbreitung des Vektors spielen, jedoch keine Schutzimpfungen vorhanden sind und außerdem der Zugang zu Medikamenten für viele betroffene Menschen nicht möglich ist, stellt der Weg der Vektorkontrolle derzeit die einzige realistische Möglichkeit zur Eindämmung der Krankheit dar.³¹

1.2. Leishmaniose

In Kalkutta im Jahre 1903 entdeckte der englische Militärarzt Sir W. Boog Leishman in der vergrößerten Milz eines Soldaten, der an Kalar-Azar starb, einen begeißelten Parasiten. Unabhängig von Leishman fand auch C. Donovan in der Milz eines an viszeraler Leishmaniose verstorbenen Patienten diesen Erreger. Ihnen zu Ehren wurden die Parasiten *Leishmania donovani* genannt. Der Überträger der Krankheit konnte lange Zeit nicht ausfindig gemacht werden. Erst 1921 bewiesen Edouard und Etienne, dass die Sandfliege des Genus *Phlebotomus* die Transmission auf den Menschen verursacht.^{8, 10}

Die DND-Initiative berichtet von 350 Millionen Menschen, die einem Risiko der *Leishmania*-Infektion ausgesetzt sind. Davon sind 98 Länder betroffen. Jährlich treten ungefähr 300 000 Neuinfektionen an viszeraler Leishmaniose und zirka 1 Million Neuinfektionen an kutaner Leishmaniose auf.³⁸

Die in subtropischen und tropischen Gebieten aller Kontinente mit Ausnahme von Australien beheimatete Schmetterlingsmücke ist der wirbellose Hauptwirt der Leishmanien. Nur die weibliche Sandfliege der Gattung *Phlebotomus* in der „Alten Welt“ und der Gattung *Lutzomyia* in der „Neuen Welt“ ist in der Lage, die Parasiten zu übertragen. Die humanpathogenen Arten und Unterarten der Leishmanien sind morphologisch nicht unterscheidbar. Biologische und biochemische Kriterien dienen neben den unterschiedlichen Krankheitsbildern als Grundlage für die Differenzierung der Arten.^{11, 18} Auf diese wird im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter eingegangen. Im Folgenden werden die Krankheitsbilder vorgestellt.

Die kutane, die mukokutane und die viszerale Leishmaniose sind die verschiedenen Formen der Krankheit. Bei der kutanen Leishmaniose, auch Orientbeule genannt, ist lediglich die Haut betroffen. Nach einer Inkubationszeit von 2 - 3 Wochen bildet sich eine Beule auf der Haut und es kommt zur Bildung eines entzündlichen Geschwürs. Dieses ist oft mit Juckreiz verbunden. Die Parasiten lokalisieren sich meist an der Einstichstelle. Die Wunde heilt oft von selbst. Jedoch bleiben unschöne Narben zurück. Diese Form ist in verschiedenen Regionen Südeuropas, des Vorderen Orients, Asiens und Lateinamerikas verbreitet.^{39, 40} Die mukokutane oder Haut- und Schleimhautleishmaniose ist eine schwerwiegendere Form der kutanen Krankheit. Bei diesem Krankheitsbild kommt es zur Dissemination der Parasiten aus den ursprünglichen Herden in die Schleimhäute des Nasen-Rachen-Raums. Dies kann zu Entstellungen des Gesichts durch Zerstörung von Nase, Lippen und Gaumen führen. Eine medikamentöse Behandlung dieser nicht selbstheilenden Krankheit, die gehäuft in Südamerika auftritt, ist erforderlich.³⁹ Die viszerale Leishmaniose ist auch unter Kala-Azar oder Dum-Dum-Fieber¹⁸ geläufig. Der Verlauf dieser Erkrankung ist eher schleichend und wird häufig mit der kutanen Leishmaniose verwechselt. Oft handelt es sich bei Bauchschmerzen, Schwächegefühl und Fieberepisoden um erste Symptome. Eine Ulzeration des Darms weist auf ein fortgeschrittenes Stadium hin. Unbehandelt kann der Verlauf nach 6 Monaten bis 2 Jahren tödlich sein. Die Infizierten sterben häufig an inneren Blutungen, Anämie oder sekundären Infektionen.^{18, 41} Zusätzlich haben Leishmaniose-HIV-Koinfektionen an Bedeutung gewonnen und erschweren die Therapie.¹¹

Wenn die durch den Saugakt übertragenen Amastigoten in den Darm des Insekts gelangen, wandeln sich diese in die schlanke, promastigote Form um. Nach der Teilung wandern die Promastigoten in den Stechrüssel der Sandfliege. Dieser morphologische Prozess dauert bei tropischen Temperaturen ungefähr 5 – 8 Tage. Beim Stich der Sandmücke gelangen die Promastigoten aus dem Stechrüssel in den Wirt. Die Promastigoten werden von Makrophagen oder anderen Phagozyten aufgenommen. Dort erfolgt die Umwandlung in die amastigote Form. Diese Form der Leishmanien ist ausschließlich im Mensch und Wirbeltier zu finden. Nach der Vermehrung durch Zweiteilung in einer parasitophoren Vakuole der Zelle platzt die Zelle. Dies ermöglicht den Amastigoten die Wanderung mit dem zirkulierenden Blut in die Organe wie Leber, Milz und Lymphknoten.^{11, 18, 39}

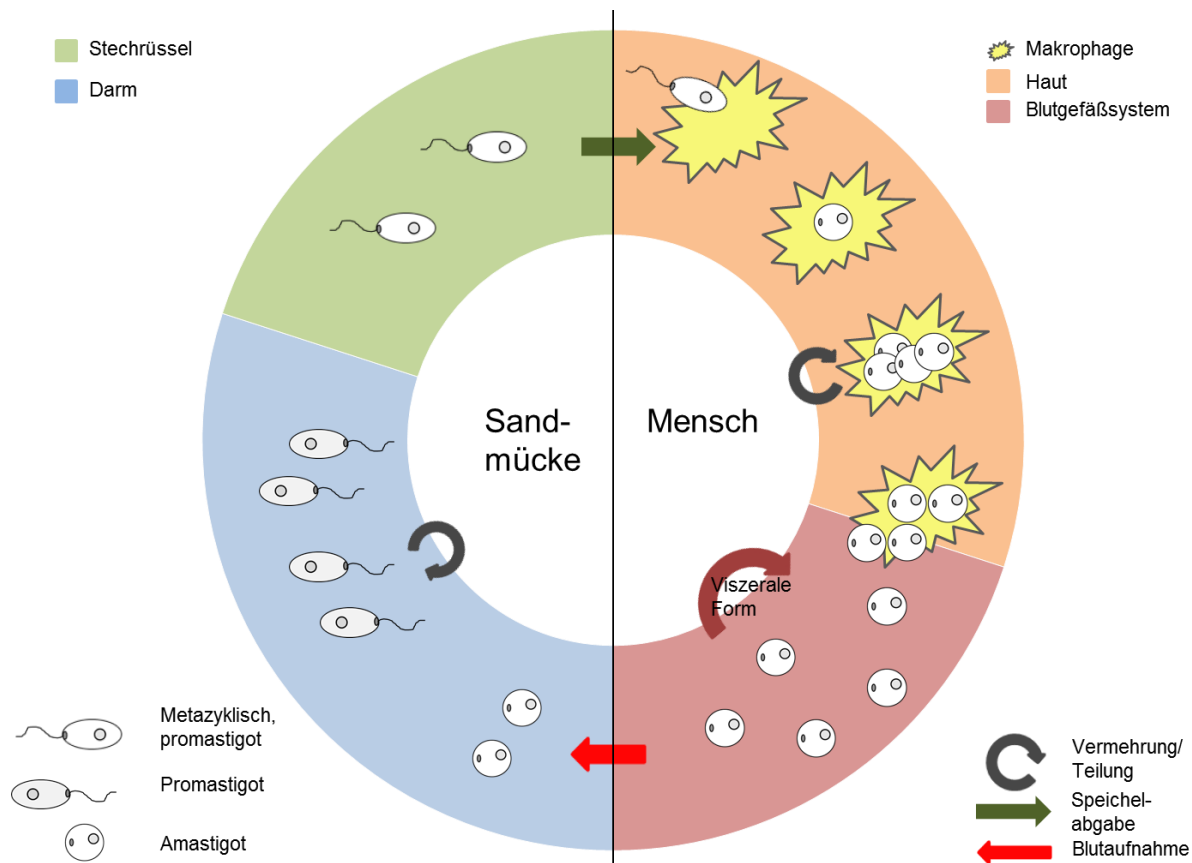


Abbildung 8: Lebenszyklus von Leishmanien.

Zur Behandlung der verschiedenen Formen der Leishmaniose werden vor allem fünfwertige Antimonverbindungen als primäre Therapie eingesetzt, wie zum Beispiel das weitverbreitete Natrium-Stibogluconat (**12**, Pentostam®), welches parenteral verabreicht wird. Die exakte Struktur des Natrium-Stibogluconats (**12**) konnte noch nicht genau geklärt werden. Die in der Abbildung 9 gezeigte Strukturformel ist die übliche Darstellung dieses Komplexes. Das fünfwertige Antimon ist relativ untoxisch für den Erreger. Durch die Reduktion dieser Verbindung zur dreiwertigen Antimonpezies entsteht das aktive Agens, welches die Trypanothionreduktase inhibiert.^{11, 39, 42}

Die Medikamente Amphotericin B (**13**) und Pentamidin (**2**) finden als sekundäre Behandlungen Anwendung, vor allem in den Gebieten wie beispielsweise in der indischen Region Bihar, in der sich durch unsachgemäße Anwendung Resistenzen gegen Antimon-Verbindungen ausgebildet haben. Amphotericin B (**13**) wird auf Grund seiner mäßigen Resorbierbarkeit aus dem Gastrointestinaltrakt parenteral verabreicht. Die nierenschädigende Wirkung dieses Medikaments kann durch den Einsatz verschiedener Lipidzubereitungen gesenkt werden. Das liposomal formulierte

Amphotericin B (**13**) ist als AmBisome[®] bekannt und wird von einigen Quellen als Arzneimittel der Wahl gegen viszerale Leishmaniose bezeichnet.^{11, 39, 42, 43}

Das symmetrische Bisamidin Pentamidin (**2**) findet seit mehr als 40 Jahren Anwendung zur Behandlung von Leishmaniose. Die Verbindung wird als Salz der Hydroxyethansulfonsäure (Pentamidin-Isethionat) intramuskulär oder intravenös appliziert. Starke Nebenwirkungen dieses Medikamentes können Übelkeit, Erbrechen, Kopf- und Bauchschmerzen und Nierenschäden sein.⁴²

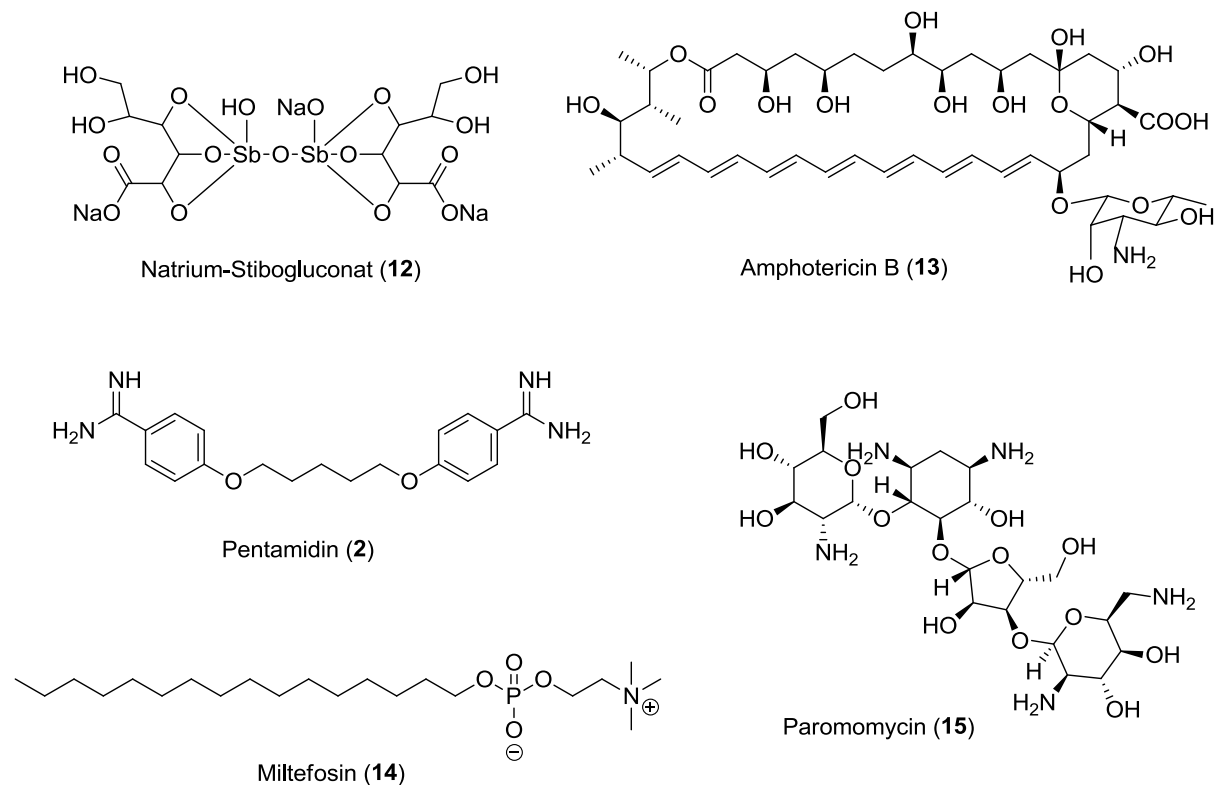


Abbildung 9: etablierte Medikamente zur Behandlung von Leishmaniosen.⁴²

Miltefosin (**14**) ist ein neueres und das einzige oral applizierbare Medikament zur Behandlung von Leishmaniose. Die potenzielle Teratogenität erfordert eine zuverlässige Kontrazeption bei Frauen im gebärfähigen Alter bis drei Monate nach der Behandlung.^{39, 42, 43}

Das im Jahr 2006 zugelassene Paromomycin (**15**) ist der neueste Wirkstoff. Dieses Aminoglykosid-Antibiotikum zeigt gute Heilungsraten und weist weniger Nebenwirkungen auf. Die generell bei Aminoglykosid-Antibiotika beobachteten Nierenschäden treten unter Paromomycin nicht auf.^{42, 43}

Die Abbildung 10 zeigt die Struktur des Sitamaquins (**16**).⁴² Die Studien zu diesem Wirkstoff wurden bereits im Jahr 2010 in der zweiten klinischen Phase abgebrochen.⁴⁴

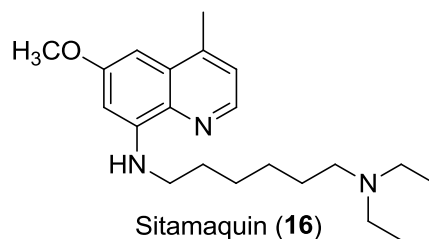


Abbildung 10: Sitamaquin, ein klinisch geprüfter Wirkstoff gegen Leishmaniose.^{42, 43}

1.3. Target

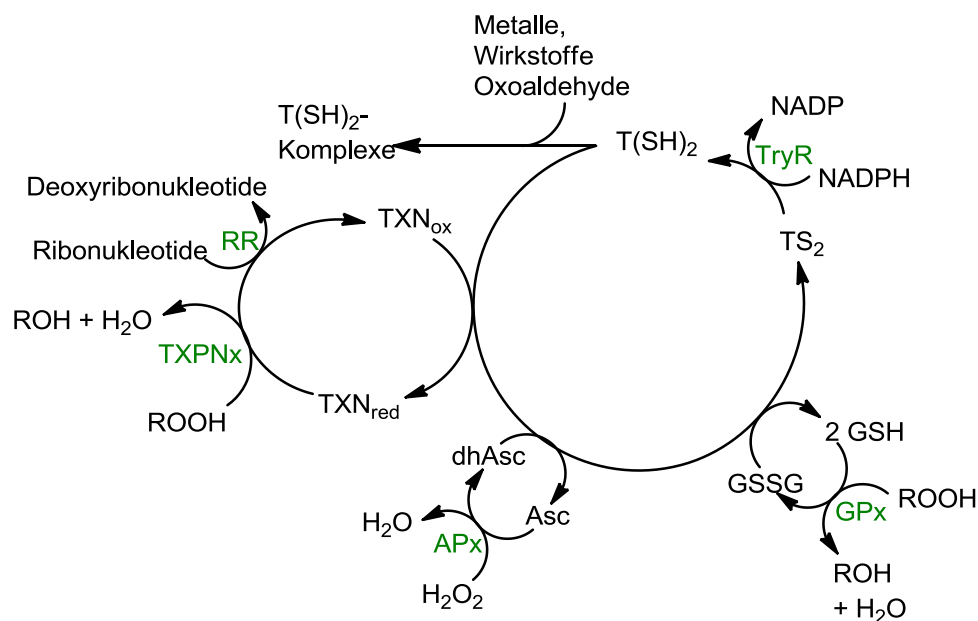
In den vorangegangenen Abschnitten wurde gezeigt, dass dringend neue Wirkstoffe zur Therapie von *Leishmania*- und *Trypanosoma*-Infektionen benötigt werden. Im Fokus der Forschung stehen immer mehr die Identifikation und Validierung eines geeigneten Targets zur Behandlung der parasitären Erkrankungen.⁴⁵

Nach der Entschlüsselung des Genoms der Trypanosomen stellten sich einige Proteinkinasen als neue mögliche Targets heraus, wie beispielsweise die CRK⁴⁶, MAPK⁴⁵ oder FPPS⁴⁷. Auch altbekannte Wirkorte sind in der Forschung anzutreffen, wie beispielsweise die Ornithindecaboxylase (ODC). Diese wird bereits von Eflornithin adressiert.

Besonders attraktiv sind natürlich lebenswichtige Systeme der Parasiten, die im menschlichen Körper nicht vorhanden sind. Potenzielle Wirkstoffe, die auf diese Systeme deaktivierend wirken, sind vermutlich nicht nur effizient, sondern auch sicher, da keine Interferenzen mit dem Wirtsmetabolismus auftreten sollten.⁴⁸ Die Trypanosomen verfügen über ein solches System. Das Trypanothionsystem ist einzigartig in dieser Spezies. Es bildet ein Analogon zum ubiquitären Glutathionsystem. Die Funktionsweise und der Aufbau eines in diesem Zusammenhang besonders wichtigen Enzyms, der Trypanothionsynthetase, soll im Folgenden beschrieben werden.

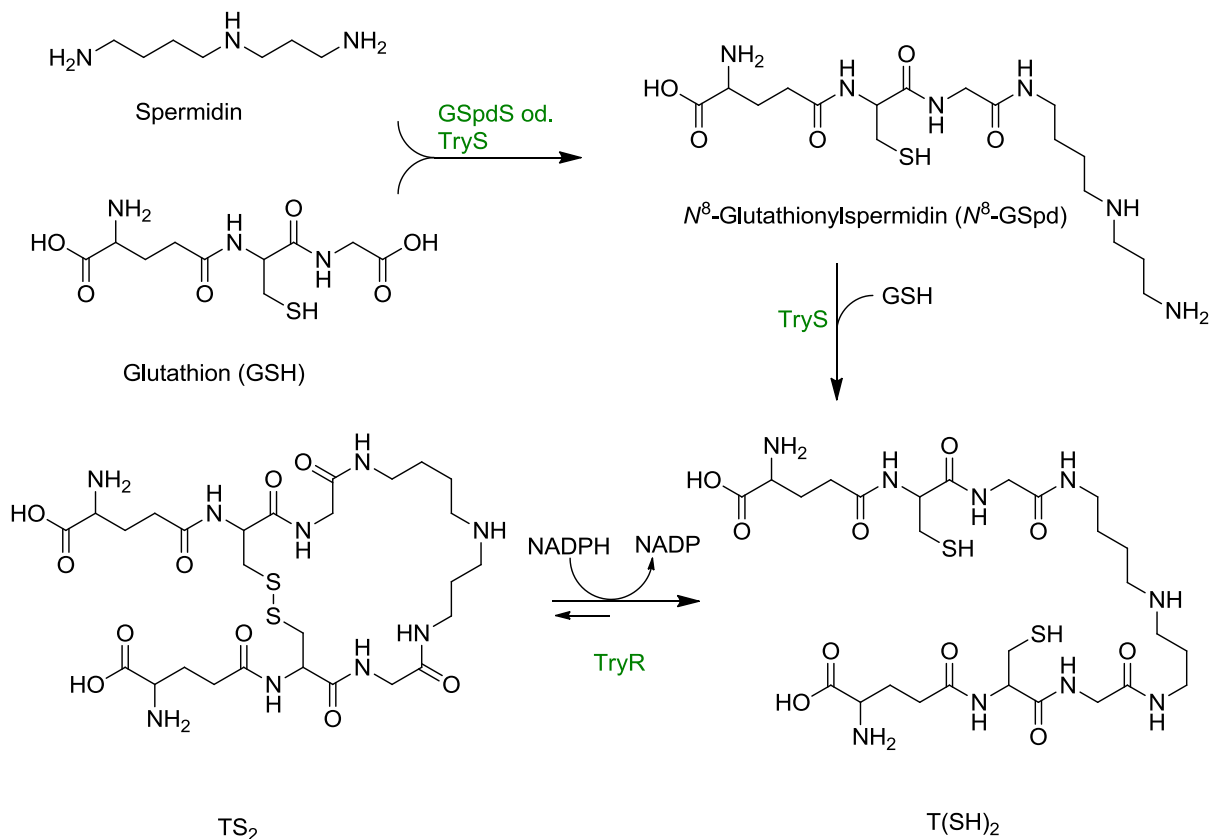
1.3.1. Trypanothionsystem

Trypanothion, N^1, N^8 -Bis(glutathionyl)spermidin, wurde 1985 von A. Fairlamb und A. Cerami entdeckt. Es wurde erkannt, dass das Trypanothion ($T(SH)_2$) in Abwehrmechanismen gegen Oxidantien und Schwermetalle involviert ist und in regulatorischen Prozessen zum Einsatz kommt. Im Jahr 1997 wurde Tryparedoxin (TXN) als ein Redoxpartner des $T(SH)_2$ von E. Nogoceke identifiziert. TXN gehört zur Thioredoxin-Superfamilie und agiert als Reduktant für Ribonukleotidreduktase und regulatorische Proteine sowie für verschiedene Arten von Thiolperoxidasen. $T(SH)_2$ und TXN dominieren den Redoxmetabolismus in den Trypanosomen. Diese Funktion übernehmen Glutathion (GSH) und Thioredoxin im Säugetierwirt. Das einzige Enzym, das Glutathion benötigt ist jenes, welches $T(SH)_2$ aus Glutathion und Spermidin synthetisiert. Hauptsächlich wird $T(SH)_2$ zu seiner zyklischen Form, dem Disulfid (TS_2) oxidiert und mit Hilfe der Trypanothionreduktase (TryR) die ursprüngliche Form regeneriert.⁴⁹⁻⁵¹ Eine Übersicht der Prozesse, an denen $T(SH)_2$ beteiligt ist, zeigt Schema 1.



Schema 1: Übersicht zur Funktion des $T(SH)_2$.⁵⁰

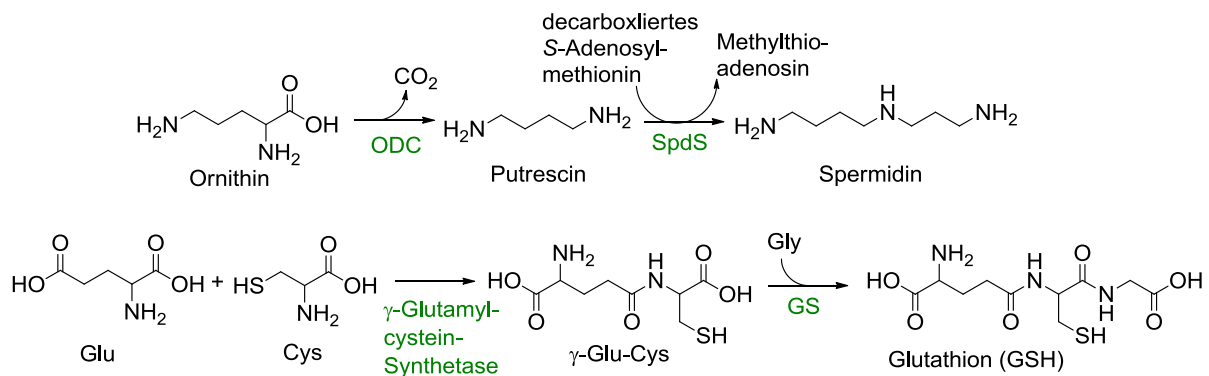
Abkürzungen: APx: Ascorbat-abhängige Peroxidase; Asc: Ascorbat; dhAsc: Dehydroascorbat; GPx: Glutathionperoxidase; GSH: Glutathion; GSSG: Glutathiondisulfid; NADP: Nicotinsäureamidadenindinukleotidphosphat; NADPH: reduzierte Form des Nicotinsäureamidadenindinukleotidphosphats; RR: Ribonukleotidreduktase; TryR: Trypanothionreduktase; TryS: Trypanothionsynthetase; $T(SH)_2$: Trypanothion; TS_2 : Trypanothiondisulfid; TXN: Tryparedoxin; TXNPx: Tryparedoxinreduktase.



Schema 2: Biosynthese des T(SH)₂.⁵²

Zunächst wurde angenommen, dass die Synthese von T(SH)₂ durch zwei verwandte Enzyme erfolgt (siehe Schema 2). Dabei führt die Glutathionylspermidinsynthetase (GSpdS) die erste Verknüpfung von Glutathion mit dem N¹- oder N⁸-Atom des Spermidins aus. Anschließend wird durch die Trypanothionsynthetase (TryS) das jeweilige freie Stickstoffatom mit einem weiteren Glutathion substituiert. Weiterführende Untersuchungen belegen, dass die TryS beide Schritte katalysieren kann. Lediglich der Einzeller *Crithidia fasciculata* besitzt sowohl GSpdS als auch TryS zur Biosynthese des T(SH)₂, während *T. brucei*, *T. cruzi* und *L. major* nur die TryS aufweisen.^{53, 54} Die beiden Bausteine Glutathion und Spermidin, deren Biosynthesen im Schema 3 dargestellt sind, sind essentiell für die Parasiten. Für die Spermidinsynthese wird Putrescin aus Ornithin durch die ODC gebildet und anschließend durch die Spermidinsynthase (SpdS) aminopropyliert. Der Aminopropylrest wird ausgehend von Methionin bereitgestellt. Das Methionin wird durch die S-Adenosylmethioninsynthetase in S-Adenosylmethionin umgewandelt und anschließend wird durch die S-Adenosylmethionindecaboxylase CO₂ freigesetzt. Das entstandene decarboxylierte S-Adenosylmethionin dient als Überträger des Aminopropylrests, wodurch Methylthioadenin entsteht.^{55, 56} Das Glutathion wird

ausgehend von Cystein (Cys) und Glutaminsäure (Glu) durch die γ -Glutamylcysteinsynthetase zum γ -Glutamylcystein umgesetzt und durch anschließende Addition des Glycins (Gly) durch die Glutathionsynthetase (GS) hergestellt. ^{48, 49, 52, 57}



Schema 3: Übersicht zur Synthese der Ausgangsstoffe für die Biosynthese von T(SH)₂.⁵²

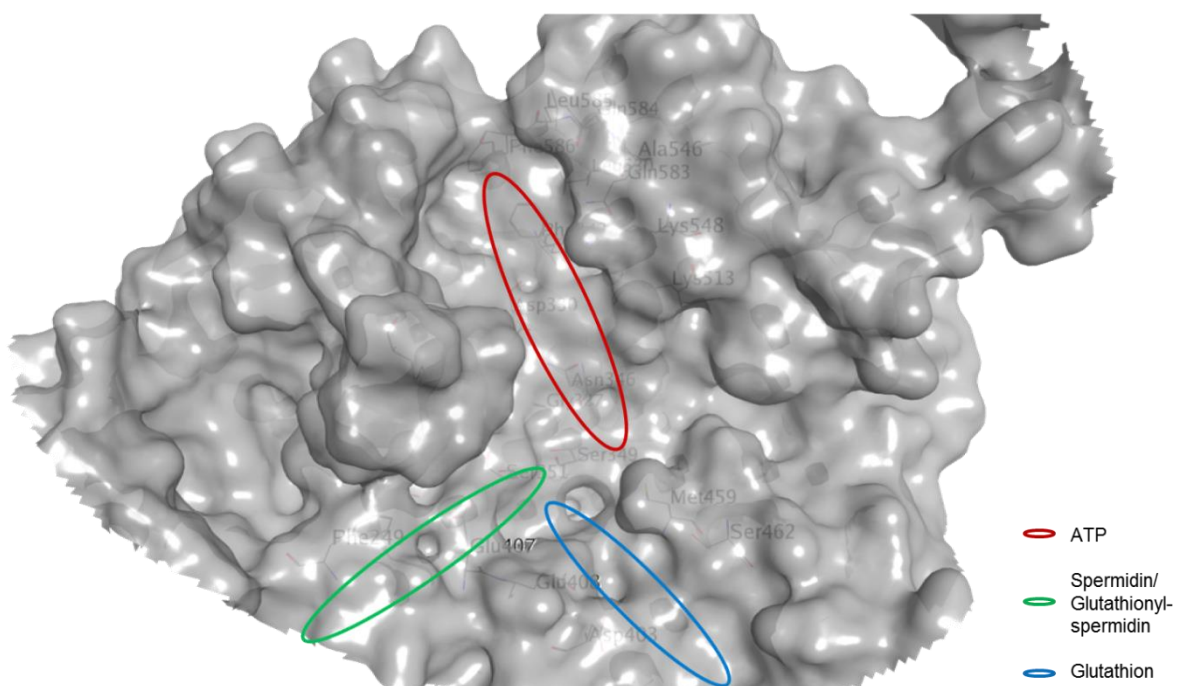


Abbildung 11: Aufbau der Bindetasche der LmTryS.⁵⁸

Der Umgang mit zwei Substraten wie Spermidin und Glutathion in einem Enzym beruht auf einem einzigartigen Mechanismus, der anhand von Röntgenkristallstrukturanalysen der TryS von *Leishmania major* und Molekulares Docking aufgeklärt wurde. Diese Daten offenbaren, dass ATP, Glutathion und Spermidin in der TryS triangulär zur Bindungsseite angeordnet sind. In der Abbildung 11 ist die Anordnung

der Substrate in den jeweiligen Bindetaschen der *LmTryS* (PDB-Code: 2VOB) dargestellt. So wird Glutathion zunächst an der Carboxylgruppe des Glycins durch ATP/Mg²⁺ phosphoryliert. Während die Glutathion- und ATP-Bindetaschen stark strukturiert sind, ist die Spermidinbindetasche relativ flach und weist kaum charakteristische Merkmale auf. Eine Drehung des Glutathionylspermidin-Adduktes (GSpd) ist innerhalb der Tasche möglich, so dass es zur zweiten Übertragung eines erneut phosphorylierten Glutathions kommen kann.^{48, 58, 59} Bei der Biosynthese von T(SH)₂ in *C. fasciculata* wurde N¹-GSpd in einem höheren Maße detektiert als das N⁸-Addukt. Dies lässt vermuten, dass die TryS eher die N⁸-Spezies nutzt, um sie in T(SH)₂ zu überführen.⁶⁰⁻⁶² Beide Verbindungen werden *in vitro* metabolisiert.⁶³

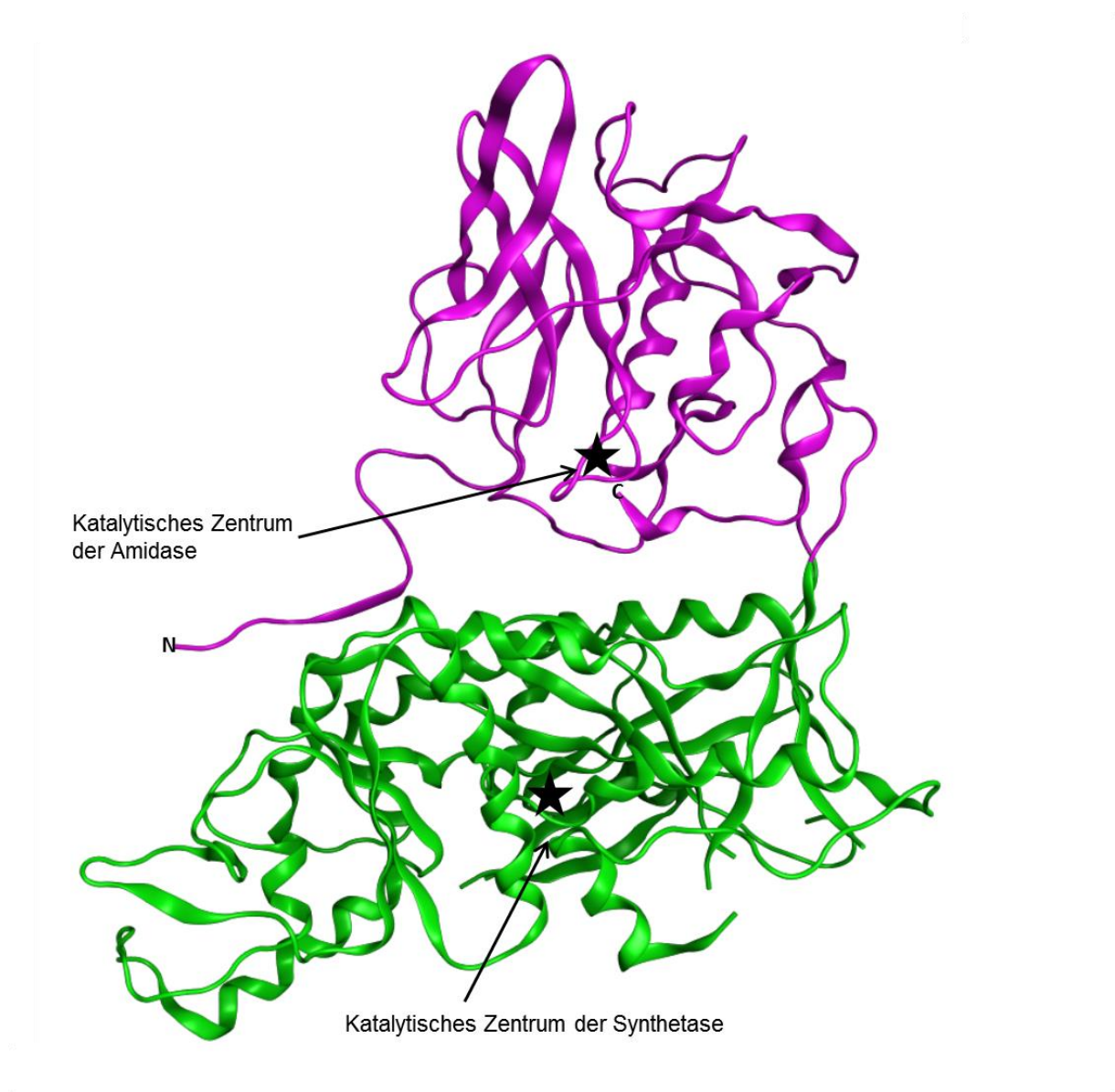


Abbildung 12: Kristallstruktur der *LmTryS* mit Synthetase- und Amidasefunktion.⁵⁸

Neben der Ligase-Aktivität weist das Enzym eine schwache Amidase-Funktion auf. Diese wird durch ein zusätzliches katalytisches Zentrum erreicht.⁴⁸ Dadurch ist das Enzym fähig, vier Reaktionen zu katalysieren. Bei diesen handelt es sich um die Synthese des GSpd sowie des T(SH)₂ und die beiden jeweiligen Rückreaktionen zum GSpd bzw. zum Spermidin und Glutathion. Die C-terminale Domäne des Enzyms katalysiert die Synthese des T(SH)₂ durch eine schrittweise Addition von zwei Glutathion-Molekülen an ein Spermidin mit Hydrolyse von zwei ATP-Molekülen. Die N-terminale Domäne ist in der Lage, T(SH)₂ und GSpd in die Ausgangsstoffe zu hydrolysieren. Das bifunktionale Enzym muss die Balance der Amidase und Synthetase regulieren, um die Konzentrationen des Glutathions, des GSpd und des T(SH)₂ auf dem gewünschten Level zu halten. In der Kristallstruktur der *LmTryS* blockiert der C-Terminus die Bindetasche der Amidase, um sie gezielt zu regulieren.^{53, 58, 62, 64-66} Die Abbildung 12 zeigt die tertiäre und sekundäre Struktur der *LmTryS* mit den katalytischen Zentren.

Seit seiner Entdeckung galt das T(SH)₂ als ein vielversprechendes Target für die Entwicklung neuer trypanozider Wirkstoffe. Bekannte Substanzen, die trypanozide Eigenschaften aufweisen, zeigen Auswirkungen auf die Biosynthese des T(SH)₂. Eflornithin inhibiert die Spermidinsynthese und die Synthese des T(SH)₂ sowie die Decarboxylierung des Ornithins zum Putrescin. Die dreiwertigen Arsenwirkstoffe binden an das T(SH)₂, an die TryR oder TXR. Wie der Wirkmechanismus der Chagas-Medikamente Nifurtimox und Benznidazol aussieht, ist nicht detailliert geklärt. Es wird angenommen, dass diese beiden Arzneimittel oxidativen Stress auslösen, die das T(SH)₂-abhängige Peroxidasystem beeinflussen. Die gravierenden unerwünschten Wirkungen, die die meisten etablierten Arzneimittel gegen die hier besprochenen Infektionen verursachen, werden auch mit mangelnder Selektivität für erregerspezifische Targets erklärt.^{48, 50, 52, 67}

Der sicherste Weg, das T(SH)₂-System zu blockieren, besteht in der Hemmung entweder der T(SH)₂-Biosynthese oder deren Regeneration aus T(SH)₂.^{48, 67}

Die letztgenannte Option kann durch die Inhibition der TryR realisiert werden, welche T(SH)₂ aus TS₂ regeneriert. Dabei handelt es sich um das bestuntersuchte Enzym des Redoxmetabolismus der Parasiten. Es verbindet als einziges das NADPH- und das Thiol-basierte Redoxsystem. TryR stellt das Analogon der Glutathionreduktase und der Thioredoxinreduktase dar und galt lange als geeignetes Target, da es eine

charakteristische Bindetasche aufweist. Es konnten zwar einige selektive Inhibitoren entwickelt werden, allerdings war die Effizienz im Infektionsmodell dieser Verbindungen enttäuschend.^{52, 67, 68}

In Knock-out-Experimenten weist die TryR immer noch eine Restaktivität von 5% auf. Dies reicht nicht aus, um die Parasiten zu töten. Aussichtsreicher als biologisches Target erscheint dagegen die TryS zu sein, denn schon eine 85 - 90%ige Hemmung führt zum Tod des Parasiten. Auch auf Grund ihrer einzigartigen Sequenz sollte die TryS eine geeignete biologische Zielstruktur darstellen. Hinzu kommt, dass die 3D-Analysen zwei gut strukturierte Bindetaschen, die eine exzellente *drugability* aufweisen, zeigten.^{48-50, 67, 69}

Bevor die Struktur der TryS bekannt war, wurden Glutathion-nachahmende Substanzen getestet. Es stellte sich heraus, dass ein Glutathion-Derivat, der *N*-Benzyloxycarbonyl-S-(2,4-dinitrophenyl)glutathionester, aktiv ist und LD₅₀-Werte unter 1 µM gegenüber Trypanosomen und Leishmanien aufweist. Des Weiteren wurden zahlreiche potenzielle Proteinkinase-Inhibitoren an der TryS getestet. Nur Paullone zeigten einen Effekt auf die TryS. Selbst *N*⁵-substituierte Paullone, die keine inhibitorische Aktivität gegenüber Proteinkinasen mehr aufweisen, inhibieren die TryS mit EC₅₀-Werten in niedrig nanomolaren Bereichen. Dies zeigt, dass die TryS selektiv inhibiert werden kann. Allerdings enttäuschten die *N*⁵-substituierten Paullone in den Tests an pathogenen Trypanosomen. Eine Optimierung dieser Substanzklasse ist deshalb erforderlich. In einem weiteren Screening einer anderen Arbeitsgruppe wurden phenylsubstituierte Thiazole, Tetrazole und Indazole entdeckt, die die TryS der *T. brucei* im sub-mikromolaren Bereich inhibieren und das Wachstum der Parasiten beeinträchtigen, während sie in Zytotoxizitätstests an humanen Wirtszellen keinerlei Wirkung aufweisen.^{48, 66, 67, 70}

Auf Grund dieser Darstellungen sollten im Rahmen dieses Projektes neue Paullonderivate synthetisiert und für die Testung an der TryS von *T. brucei*, *T. cruzi* und *L. infantum* zur Verfügung gestellt werden. Darüber hinaus war auch die Testung auf antiparasitäre Aktivität an ausgewählten Erregerspezies geplant.

2. Zielsetzung

In publizierten Artikeln wurde bereits von der antileishmaniellen Wirkung von Chalkonen, wie der Verbindung **17**, berichtet.⁷¹⁻⁷³ Außerdem konnte gezeigt werden, dass Paullon-Chalkon-Hybrid-Strukturen, wie beispielsweise die Struktur **18**, sowohl antileishmanielle als auch antitrypanosomale Aktivität aufweisen.^{74, 75}

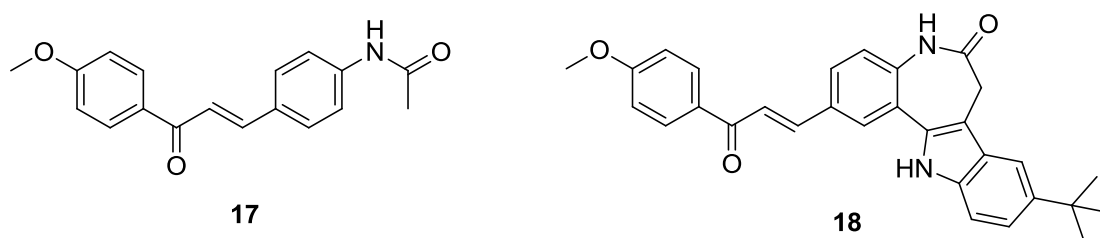


Abbildung 13: Chalkon **17** und Paullon-Chalkon-Hybrid **18**.

Bei einer der besten getesteten Verbindungen aus dieser Reihe handelt es sich um das Hybrid **19**. Diese weist einen GI_{50} -Wert von $0.76 \mu M$ an axenischen Amastigoten und einen GI_{50} -Wert von $0.57 \mu M$ an *T. b. rhodesiense* auf. Der Wirkmechanismus ist noch ungeklärt. Allerdings zeigen die Paullon-Chalkon-Hybride eine hohe Zytotoxizität an THP-1-Makrophagen.^{74, 75}

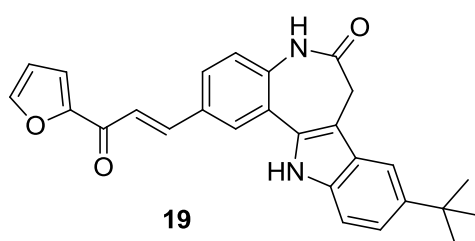


Abbildung 14: Paullon-Chalkon-Hybrid-Verbindung **19**

Paullone sind darüber hinaus für ihre Inhibition gegenüber Proteinkinasen bekannt. Besonders gute inhibitorische Aktivitäten zeigen sie an den Cyclin-abhängigen Kinasen CDK1 und CDK5 sowie der Glykogen-Synthase-Kinase-3 (GSK-3).⁷⁶⁻⁷⁸ Aus der Analyse des Genoms der Parasiten geht hervor, dass diese 11 Kinasen besitzen, die der CDK-Familie zugeordnet werden können.⁴⁵ Die CRK3 der Leishmanien stellt ein Homologes der humanen CDK1 dar.⁷⁸⁻⁸⁰ Diese Tatsache erklärt möglicherweise die antileishmanielle und antitrypanosomale Aktivität der Paullone.

Im Jahr 2004 wurde von KUNICK et al.⁷⁶ gezeigt, dass 4-Azapauillone keine Inhibition gegenüber den CDK1-, CDK5- und GSK-3-Proteinkinasen aufweisen. Eine beispielhafte Struktur der 4-Azapauillone ist der Abbildung 15 zu entnehmen.

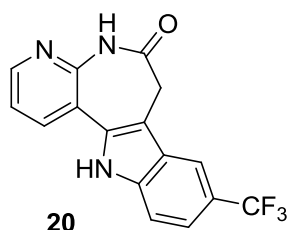


Abbildung 15: 4-Azapauillon **20**.

Das Ziel dieser Arbeit war die Kombination der Strukturmerkmale der 4-Azapauillone und der Pauillon-Chalkon-Hybride, um antiparasitäre Pauillon-Derivate mit geringer Toxizität zu entwickeln. Neben neuen 4-Azapauillonen **21** sollten 4-Azapauillon-Chalkon-Hybride (**23** bzw. **25**) synthetisiert werden. Anders als bei den Verbindungen **18** und **19** sollten die Substituenten nicht in der 2-Position sondern in der 9- bzw. der 11-Position (**23** und **25**) angeknüpft werden. Unter Beibehaltung der α,β -ungesättigten Carbonylfunktion sollten nicht nur verschiedene substituierte Aromaten (**23** bzw. **25**), sondern auch Carbonsäureamid-Strukturelemente (**22** bzw. **24**) eingeführt werden. Weiterhin sollte die mehrstufige Synthesesequenz des für die Herstellung der 4-Azapauillone notwendigen Eduktes **30** optimiert werden.

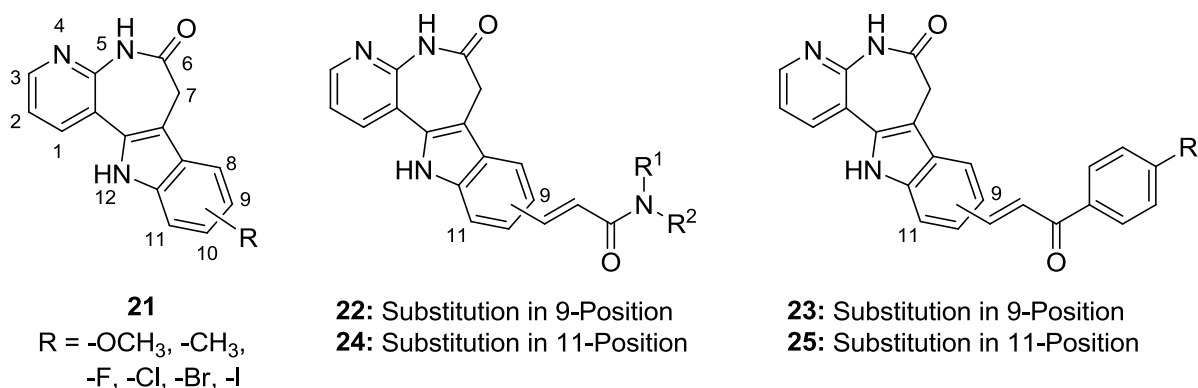
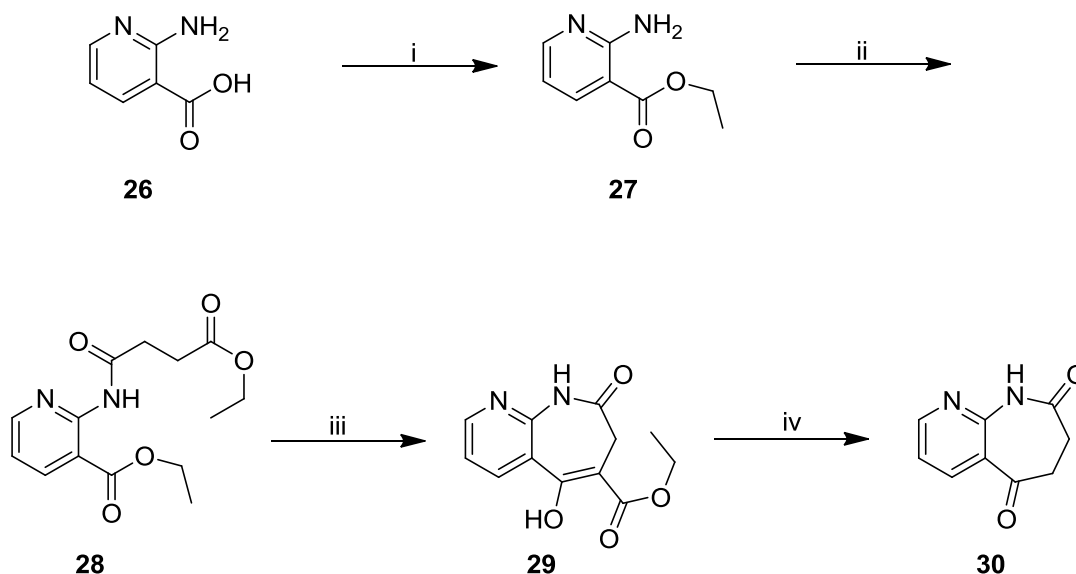


Abbildung 16: geplante 4-Azapauillone.

3. Synthesen

3.1. Synthese des 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dions (**30**)

Ausgehend von 2-Aminonicotinsäure (**26**) wurde 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**) über eine vierstufige Synthesesequenz erhalten. Schema 4 zeigt eine Übersicht der Reaktionen, die in den folgenden Abschnitten detaillierter besprochen werden sollen.



Schema 4: Übersicht der Syntheseschritte zum 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**)

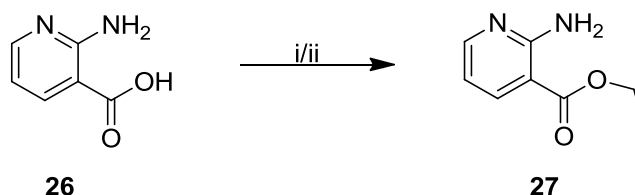
Reagenzien und Bedingungen: i) K_2CO_3 , CH_3CH_2I , DMF, RT, 1 h; ii) Bernsteinsäureethylesterchlorid, Pyridin, THF, RT, 2 h; iii) $KOtBu$, Toluol, DMF, 0 °C \rightarrow RT, 5 h; iv) DMSO, H_2O , 150 °C, 5 – 7 h.

Die Verbindung **30** diente als Ausgangsstoff für die Synthese neuer Paullon-Analoga, daher war eine Optimierung der Synthesesequenz von Vorteil.

3.1.1. Synthese des 2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylesters (**27**)

Im ersten Reaktionsschritt wurde 2-Aminonicotinsäure (**26**) mit Iodethan und Kaliumcarbonat zum 2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylester (**27**) umgesetzt (siehe Schema 5). In einer Methode nach KOHNO et al.⁸¹ erfolgte die Umsetzung in Aceton.

Jedoch waren hier die Mengen an eingesetztem Kaliumcarbonat und die Löslichkeit desselbigen in Aceton unvorteilhaft bezüglich der Ausbeute. Des Weiteren war die lange Reaktionszeit mit 32 h ungünstig. Daher wurde die Methode von LAUENROTH⁸² angewandt und etwas modifiziert. Bei dieser Variante erfolgte die Umsetzung der Edukte in DMF. Durch die Optimierung der Aufarbeitung konnte die Ausbeute dieser Veresterung von 63.0%⁸² auf 80.8 % gesteigert werden.



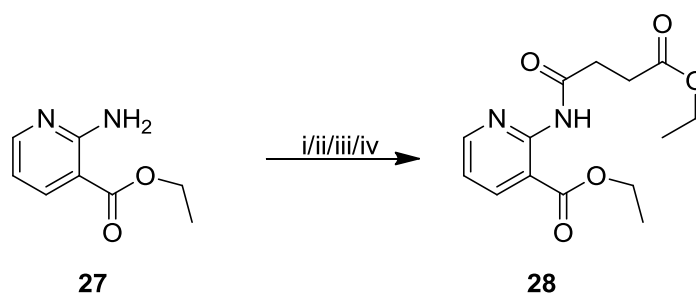
Schema 5: Synthese des 2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylesters (**27**)

Reagenzien und Bedingungen: i) K_2CO_3 , CH_3CH_2I , DMF, RT, 1 h oder ii) K_2CO_3 , CH_3CH_2I , Aceton, Δ und RT, je 16 h.

3.1.2. Synthese des 2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylesters (**28**)

Im Folgenden sollte die Verbindung **27** durch Acylierung der Aminofunktion mit Bernsteinsäureethylesterchlorid in den 2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylester (**28**) überführt werden. Bei einer von BLACKBURN et al.⁸³ beschriebenen Methode wurden DMAP und DIPEA als Hilfsbasen eingesetzt und Methylenchlorid als Lösungsmittel verwendet. Dass das Produkt **28** entstand, wurde durch 1H -NMR-Spektren bewiesen. Jedoch stellte die Reinigung ein Problem dar. Da es sich bei dem Produkt um eine viskose Flüssigkeit handelte, war eine Umkristallisation nicht möglich. Auch eine Säulenchromatographie lieferte zunächst keine zufriedenstellenden Ergebnisse.

Eine andere Variante wurde den Arbeiten von LAUENROTH⁸² und ACHTERMANN et al.⁸⁴ entnommen. Bei dieser wurde Calciumcarbonat als Base und Toluol als Lösungsmittel verwendet. Dünnschichtchromatographisch konnte gezeigt werden, dass das Produkt entstand. Jedoch wiesen mehrere Flecken auf dem DC auf Verunreinigungen hin. Bei Austausch des Calciumcarbonats durch Pyridin bildete sich kein Produkt.



Schema 6: Synthese des 2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylesters (**28**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Bernsteinsäureethylesterchlorid, DMAP, DIPEA, CH_2Cl_2 , RT, 24 h oder ii) Bernsteinsäureethylesterchlorid, CaCO_3 , Toluol, RT, 5 h oder iii) Bernsteinsäureethylesterchlorid, Pyridin, THF, RT, 2 h oder iv) Bernsteinsäureethylesterchlorid, *N,N*-Dimethylanilin, THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 1 h.

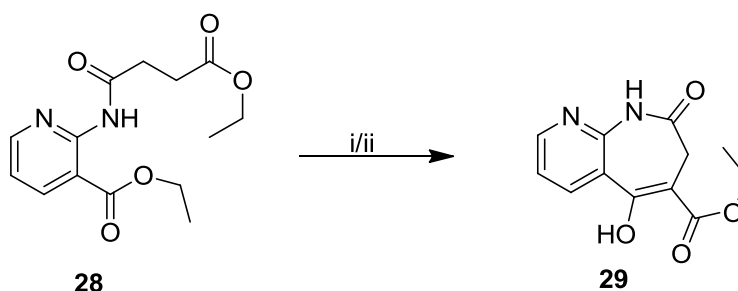
Wurde allerdings unter Beibehaltung der Base Pyridin das Lösungsmittel durch THF ersetzt wie bei KLING et al.⁸⁵, konnte dünnschichtchromatographisch ein neuer Fleck detektiert werden. Auf Grund des großen Überschusses an Bernsteinsäureethylesterchlorid (1.85 Äq.) waren im ^1H -NMR-Spektrum neben den Signalen des Produktes die des Bernsteinsäureethylesterchlorids zu sehen. Gleichwohl zeigten Versuche, in denen die Äquivalente des Esterchlorids (1.00, 1.20, 1.40 Äq.) und die Reaktionszeit (2 - 8 h) variiert wurden, keine Verbesserung. In den aufgenommenen ^1H -NMR-Spektren wurden sogar die Signale der Ausgangsverbindung **27** zusätzlich sichtbar. Dies deutete auf einen unvollständigen Umsatz hin und somit schien der Einsatz des großen Überschusses an Bernsteinsäureethylesterchlorid gerechtfertigt. Allerdings stellte die Entfernung desselbigen ein Problem dar, was jedoch die nachfolgende Umsetzung von Verbindung **28** nicht beeinträchtigte.

In einer von VENUTI⁸⁶ publizierten Methode wurde der Einsatz von *N,N*-Dimethylanilin beschrieben. Auch unter Verwendung dieser Base konnte das gewünschte Produkt **28** erhalten werden. Durch eine säulenchromatographische Reinigung war es in diesem Falle möglich, den 2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylester (**28**) als beigen Feststoff zu erhalten. Da jedoch die Ausbeute von 26% bedingt durch die Aufarbeitung recht gering war, wurde unter Berücksichtigung der folgenden Synthesestufen die Hilfsbase Pyridin mit THF als Methode favorisiert. Anders als im Fall des Einsatzes von Pyridin war die weitere Umsetzung von Verbindung **28** in Gegenwart des *N,N*-Dimethylanilins nicht ohne eine Reinigung möglich.

Die Verbindung **28** wurde für die weiteren Syntheseschritte gemäß der im Schema 6 formulierten Variante iii in THF mittels Pyridin bei Raumtemperatur gewonnen und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

3.1.3. Synthese des 5-Hydroxy-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-6-carbonsäureethylesters (**29**)

Das Rohprodukt **28** wurde in einer Dieckmann-Ester-Kondensation zum 5-Hydroxy-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-6-carbonsäureethylester (**29**) umgesetzt. Nach BLACKBURN et al.⁸³ wurde die Reaktion mit Kalium-*tert*-butylat in THF bei Raumtemperatur durchgeführt. Diese Variante führte zu mäßigen Ausbeuten von 16.9% über zwei Stufen bezogen auf die Menge des eingesetzten Edukts **27**.



Schema 7: Synthese des 5-Hydroxy-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-6-carbonsäureethylesters (**29**)

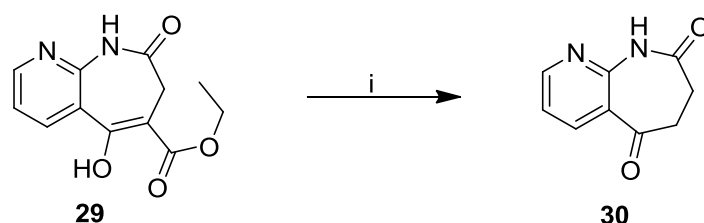
Reagenzien und Bedingungen: i) KO^tBu, Toluol, DMF, 0 °C → RT, 5 h oder ii) KO^tBu, THF, RT, 5 h.

Durch die Verwendung von Toluol als Lösungsmittel und unter Zusatz von DMF konnte die Ausbeute dieses Verfahrens auf 33.4% über zwei Stufen gesteigert werden.

3.1.4. Synthese des 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dions (**30**)

Als letzter Syntheseschritt dieser Sequenz erfolgte die Dealkoxycarbonylierung der Verbindung **29** in einem Gemisch aus DMSO und Wasser zum 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**). Hierbei wurde nach SATTLEGGER et al.⁸⁷ die gesamte Menge des benötigten Wassers von Beginn an zugegeben. Das Verhältnis

von DMSO zu Wasser betrug dabei 9:1. Dies führte zu einer Steigerung der Ausbeute um fast 7% in Bezug auf die von LAUENROTH gewählte Methode⁸², die die portionsweise Zugabe des Wassers vorsieht. Es konnte eine Ausbeute von 86.6% erzielt werden.



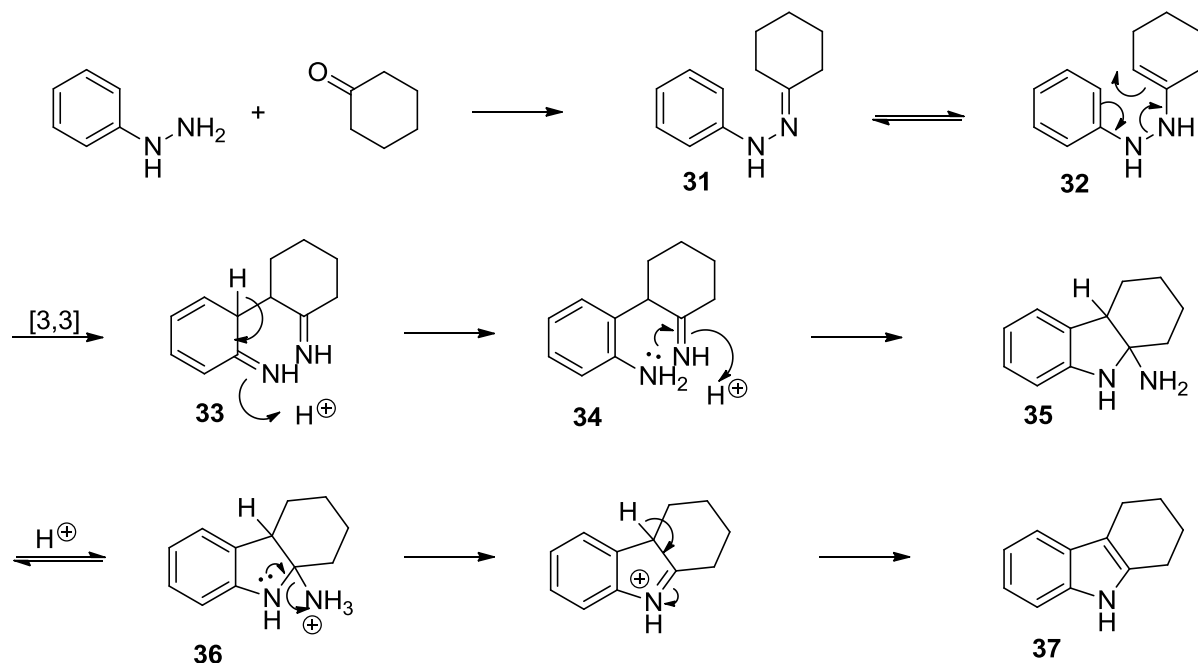
Schema 8: Synthese des 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dions (**30**)
 Reagenzien und Bedingungen: i) DMSO, H₂O, 150 °C, 5 – 7 h.

Nach Optimierung der zuvor beschriebenen Synthese konnte die Gesamtausbeute nach vier Stufen ausgehend von 2-Aminonicotinsäure von 11.5% auf 23.4% gesteigert werden.

3.2. Synthese unterschiedlich substituierter 7,12-Dihydropyrido-[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-one

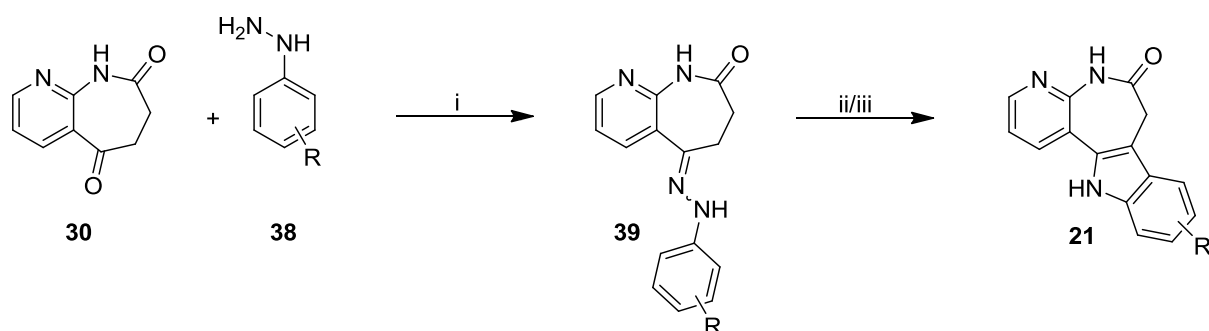
Die zuvor beschriebene Verbindung **30** sollte nun in einer Fischer-Indol-Reaktion mit Phenylhydrazinen umgesetzt werden. Die Fischer-Indol-Reaktion ist seit ihrer Entdeckung die wichtigste Methode zur Synthese substituierter Indole. Zur Katalyse der Indolisierung können verschiedene Säuren verwendet werden: 1) starke Säuren wie PPA, HCl, H₂SO₄; 2) schwache Säuren wie AcOH; 3) feste Säuren wie Zeolit Y oder Ionenaustauscherharze und 4) Lewis-Säuren wie PCl₃, ZnCl₂.⁸⁸ Ein Vorteil dieser Reaktion ist, dass die Zwischenstufe, das Hydrazon, nicht zwingend isoliert werden muss. Der Mechanismus der Fischer-Indol-Synthese wurde bereits 1924 von R. ROBINSON und G. M. ROBINSON⁸⁹ aufgestellt. Dieser durchläuft fünf Schritte: 1) Bildung des Phenylhydrazons **31**, 2) Tautomerisierung des Hydrazons zum korrespondierenden Enhydrazin **32**, 3) C-C-Bindungsknüpfung und N-N-Bindungsspaltung durch Elektronenverschiebung in einer [3,3]-sigmatropen Umlagerung (**33**), 4) Rearomatisierung des Benzolrings unter Bildung eines aromatischen Amins **34**, welches das Imin angreift, um ein Aminoal **35** zu bilden und

5) Abspaltung eines Ammoniakmoleküls (**36**), um schließlich im gewünschten Indolsystem **37** zu resultieren.⁹⁰



Schema 9: Mechanismus der Fischer-Indol-Reaktion.⁹⁰

Das Schema 10 zeigt schematisch die Reaktion der Ausgangsverbindung **30** mit Phenylhydrazin **38** zum 4-Azapauillon **21**. Die Zwischenstufe, das Hydrazone **39**, wird hierbei aufgeführt, da diese oft isoliert wurde.



Schema 10: Syntheschema unterschiedlich substituierter 4-Azapauillone

Reagenzien und Bedingungen: i) (NaOAc), Eisessig, RT od. 70 °C ; ii) Eisessig, H₂SO₄, 0 °C → 70 °C oder iii) Ph₂O, Δ.

In der von KUNICK et al.⁷⁶ beschriebenen Methode zur Herstellung von 4-Azapauillon (21) erfolgte die Umsetzung von Verbindung **30** mit Phenylhydrazinen **38** bzw. ihren Hydrochloriden und Natriumacetat in Eisessig bei 70 °C unter Zugabe von

konzentrierter Schwefelsäure. Eine weitere, ebenfalls von KUNICK et al.⁷⁶ beschriebene Methode besteht darin, dass zunächst das Hydrazon **39** hergestellt wurde. Hierzu wurde das Edukt **30** mit einem Phenylhydrazin **38**, bzw. einem Phenylhydrazin-Hydrochlorid und Natriumacetat in Eisessig bei 70 °C gerührt. Durch das Beenden der Reaktion durch Zugabe von wässriger Natriumacetatlösung konnte das Phenylhydrazon **39** ausgefällt und filtriert werden. Dieses konnte anschließend in einer thermisch induzierten Fischer-Indol-Reaktion umgesetzt werden. Hierzu eignete sich Diphenylether, welcher einen hohen Siedepunkt aufweist.

In der Tabelle 2 sind die meisten der in dieser Arbeit synthetisierten 4-Azapauillone abgebildet. Diese Tabelle weist zusätzlich auf: 1) ob die Zwischenstufe, das Phenylhydrazon **39**, isoliert wurde; 2) auf welche Art und Weise die Indolisierung erfolgte; 3) die Höhe der Ausbeute und 4) die erzielten Reinheiten (Ermittlung mittels HPLC, nach Integration der Peakflächen Auswertung unter Verwendung der 100%-Methode).

Bei der Verbindung **21a** handelt es sich um das unsubstituierte 7,12-Dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on. Dieses wurde ohne Isolierung des Phenylhydrazons **39a** bei 70 °C mit Schwefelsäurezugabe erhalten.

Die Verbindung **21b** wurde analog zum 7,12-Dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21a**) hergestellt.

Die Verbindungen **21c-e** wurden synthetisiert, indem zunächst die Zwischenstufen, die Phenylhydrazone **39c-e**, isoliert wurden. Anschließend wurden diese in einer thermisch induzierten Fischer-Indol-Reaktion in Diphenylether umgesetzt. Auf Grund der relativ starken elektronenziehenden Effekte der Substituenten der Phenylhydrazine **38c-e** läuft der säurekatalysierte Ringschluss weniger gut ab, so dass die Umsetzung thermisch induziert durchgeführt wurde. Zwar verlängern sich dadurch die Reaktionszeiten, dies muss jedoch in Kauf genommen werden. Die Synthese von Verbindung **21e** lieferte die geringste Ausbeute mit 3.3%. Dies ist durch den besonders starken negativen induktiven Effekt der Nitrogruppe zu erklären. Eine direkte Korrelation zwischen den negativen induktiven Effekten und den Ausbeuten ist jedoch nicht zu verzeichnen.

Tabelle 2: Übersicht der synthetisierten 4-Azapauillone.

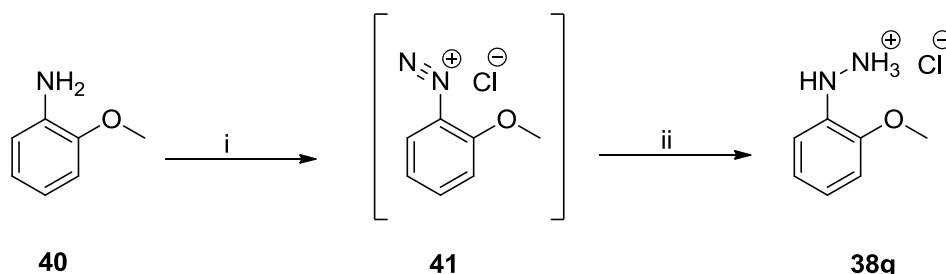
Verbindung 21	Rest R	Isolierung der Zwischen- stufe 39	Methode der Fischer- Indol- Zyklisierung	Ausbeute in %	Reinheit in % *
a	H	-	A	55.9	99.5
b	9- <i>t</i> -Bu	-	A	61.6	99.6
c	9-COOH	isoliert	C	44.9 ⁽²⁾	98.2
d	9-CN	isoliert	C	14.8 ⁽²⁾	95.8
e	9-NO ₂	isoliert	C	3.3 ⁽²⁾	95.4
f	9-OCH ₃ ^a	-	A	98.4	96.7
g	11-OCH ₃	isoliert	B2	16.8 ⁽¹⁾	61.5
h	9-Br, 11-OCH ₃	isoliert	B2	10.3 ⁽²⁾	92.9
i	11-CH ₃	isoliert	B1	3.9 ⁽²⁾	85.4
j	8-Cl, 10-Cl	isoliert	C	17.7 ⁽²⁾	98.5
k	9-F	isoliert	C	26.1 ⁽²⁾	97.8
l	9-Br ^a	-	A	43.3	98.6
m	9-I	isoliert	A, B4	56.4 ⁽²⁾	98.6
n	11-F	isoliert	B2, C	38.1 ⁽²⁾	80.4
o	11-Cl	isoliert	B3	38.3 ⁽²⁾	99.1
p	11-Br	isoliert	B3	26.2 ⁽²⁾	97.5
q	11-I	isoliert	B4	34.1 ⁽²⁾	98.1

a) Verbindungen **21f** und **21l** literaturbekannt⁹¹; Methode: A) (NaOAc), Eisessig, H₂SO₄, 70 °C (ohne Isolierung des Hydrazons); B) Eisessig, H₂SO₄, 1) 0 °C, 2) RT, 3) 40 °C, oder 4) 70 °C; C) Ph₂O, Δ; Ausbeute: (1) Angabe der Ausbeute über eine Stufe, (2) Angabe der Ausbeute über 2 Stufen; Reinheit: *) HPLC, AUC, 100%-Methode.

Die Verbindung **21f** wurde ohne Isolierung der Zwischenstufe in Eisessig ohne Zusatz von Schwefelsäure bei 70 °C nach K. LAUENROTH⁹¹ synthetisiert.

Für die Synthese der Verbindung **21g** wurde zunächst das Phenylhydrazin **38g** synthetisiert. Dazu wurde *o*-Anisidin (**40**) diazotiert. Das entstandene Diazoniumsalz

41 wurde ohne Isolierung in einem weiteren Schritt mit Zinn(II)-chlorid zum Hydrazin **38g** reduziert.⁹²



Schema 11: Synthese des 2-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorids (**38g**)

Reagenzien und Bedingungen: i) NaNO_2 , HCl , H_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min; ii) 1. $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HCl , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2. TBME, 3. HCl (g), $0\text{ }^\circ\text{C}$.

Das 2-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38g**) wurde anschließend mit Natriumacetat und dem Edukt **30** in Eisessig zum Hydrazon **39g** umgesetzt. Um die Zielverbindung **21g** zu erhalten, wurden Versuche zur Indolisierung des 5-[2-(2-Methoxyphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-ons (**39g**) sowohl in Eisessig bei Raumtemperatur als auch in siedendem Diphenylether durchgeführt. Bei beiden Ansätzen konnte das gewünschte Produkt **21g** erhalten werden, jedoch gelang keine ausreichende Reinigung. Anhand von ^1H -NMR-Untersuchungen wurde festgestellt, dass bei der Reaktion in Eisessig mit Schwefelsäurezugabe keine vollständige Umsetzung erfolgte, da die Signale des Hydrazons **39g** im ^1H -NMR-Spektrum zu verzeichnen waren. Des Weiteren konnten Signale eines Nebenproduktes ausgemacht werden. Hierbei könnte eine Wanderung der Methoxygruppe erfolgt sein. Die Abbildung 17 zeigt die anhand der Kopplungskonstanten der ^1H -NMR-Signale denkbaren Nebenprodukte **42** und **21f**.

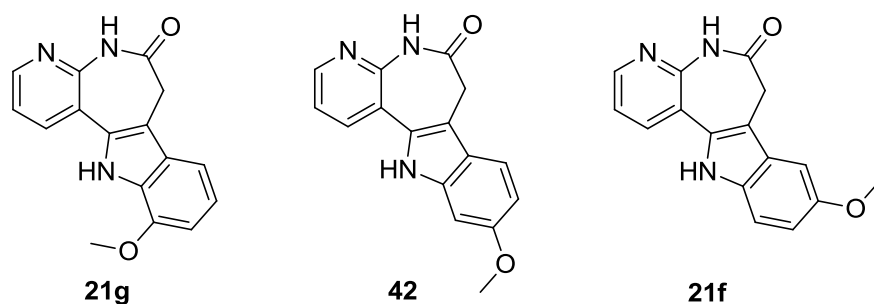
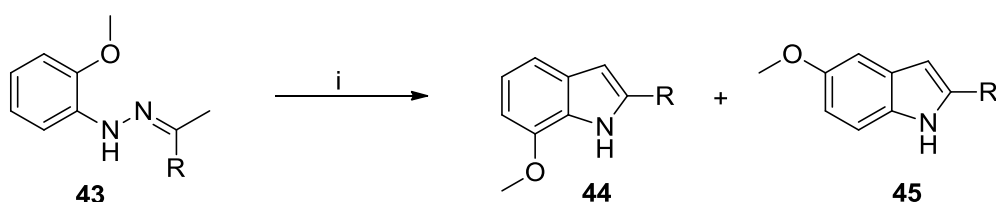


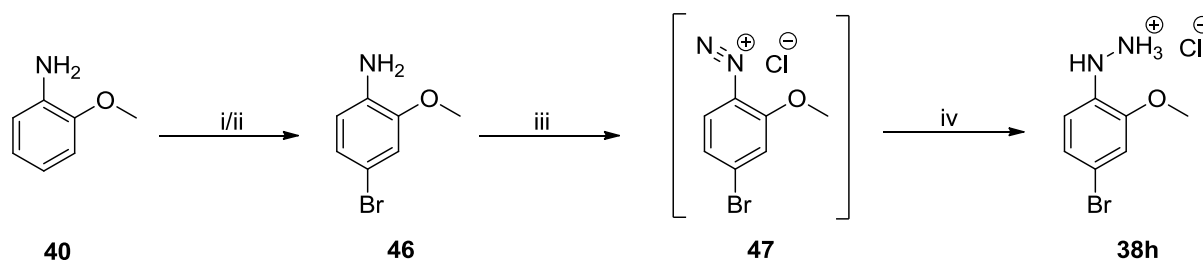
Abbildung 17: mögliche Umlagerungsprodukte (**42** und **21f**) aus der Synthese von Verbindung **21g**.

Schema 12: Reaktion nach ISHII⁹³

Reagenzien und Bedingungen: i) Eisessig, H₂SO₄.

ISHII beschrieb bereits im Jahre 1981 die Wanderung der Methoxygruppe bei der Zyklisierung des 2-Methoxyphenylhydrazons **43**.⁹³ In diesem Artikel wurde berichtet, dass unter Verwendung von Eisessig und Schwefelsäure neben dem gewünschten 7-Methoxyindolin **44** das 5-Methoxyindolin **45** erhalten wurde. Diese Tatsache spricht dafür, dass es sich bei dem Nebenprodukt in dieser Arbeit eher um Verbindung **21f** handelt. Durch HPLC-Untersuchungen konnte als Verunreinigung in dem isolierten Material **21g** neben dem bereits kernresonanzspektroskopisch identifizierten Hydrazon **39g** eine weitere Substanz nachgewiesen werden. Diese war jedoch nicht mit dem 4-Azapavillon **21f** identisch, wie durch den Vergleich der Retentionszeiten mit unabhängig synthetisiertem Produkt **21f** ermittelt wurde. Obwohl die Verbindung **21f** damit als Nebenprodukt ausgeschlossen wurde, konnte bisher noch nicht sicher nachgewiesen werden, dass das betreffende Nebenprodukt die Konstitution **42** aufweist.

Für die Darstellung der Verbindung **21h** wurde zunächst das 4-Brom-2-methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38h**) synthetisiert. Dazu wurde wiederum *o*-Anisidin (**40**) umgesetzt. In einem ersten Schritt erfolgte die Bromierung des *o*-Anisidins (**40**) nach BAGMANOV⁹⁴ in Tetrachlorkohlenstoff mit Brom. Zwar konnte die 4,6-Dibromierung als Nebenreaktion beobachtet werden⁹⁵, dennoch gelang die Isolierung des Produktes **46**. Dieses konnte auch auf eine andere Art und Weise erhalten werden. In Anlehnung an eine Methode von KHAZAEI⁹⁶ wurde statt mit Brom mit Kaliumbromid und Iodsäureanhydrid in Methylenchlorid unter Zusatz von Wasser bromiert. Nach der Bromierung des *o*-Anisidins (**40**) erfolgte die Diazotierung. Das Diazoniumsalz **47** wurde nicht isoliert, sondern direkt durch Zugabe von Zinn(II)-chlorid reduziert.^{97, 98}



Schema 13: Synthese des 4-Brom-2-methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorids (**38h**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Br_2 , CCl_4 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 4 h oder ii) KBr , HIO_3 , DCM , RT , 40 min; iii) NaNO_2 , HCl , H_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min; iv) 1. $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HCl , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2. TBME, 3. HCl (g), $0\text{ }^\circ\text{C}$.

Für die Synthese des 4-Azapauillons **21h** wurde das 4-Brom-2-methoxyphenylhydrazin (**38h**) mit Verbindung **30** zunächst zum Hydrazon **39h** umgesetzt, welches anschließend entweder in Eisessig mit Schwefelsäurezusatz bei verschiedenen Reaktionstemperaturen behandelt oder in Diphenylether zum Rückfluss erhitzt wurde. Nach beiden Methoden konnte das Produkt **21h** erhalten werden. Bei der Umsetzung in Eisessig mit Schwefelsäurezugabe wurde beobachtet, dass die Reaktion sowohl bei $70\text{ }^\circ\text{C}$ als auch bei Raumtemperatur abläuft. Jedoch bestand auch hier, wie bei Verbindung **21g**, das Problem der Reinigung. Da keine vollständige Umsetzung erfolgte, sind die Signale des Hydrazons **39h** in den ^1H -NMR-Spektren des isolierten Produktes **21h** zu verzeichnen. **39h** war auch in den HPLC-Chromatogrammen als ein weiteres Signal erkennbar. Die durchgeführten Umkristallisationsversuche stellten keine optimale Reinigungsmethode dar. Deshalb wurden verschiedene Diffusionsvarianten getestet, bei denen der Feststoff in DMF gelöst und die erhaltene Lösung in ein Reagenzglas gefüllt wurde. Dieses wurde in ein zweites Gefäß, welches mit einem anderen, unpolaren Lösungsmittel gefüllt war, gestellt, so dass sich die Atmosphäre des verschlossenen zweiten Gefäßes mit diesem sättigen konnte. Als ein geeignetes Lösungsmittel stellte sich Methylenchlorid heraus. Nach dieser Methode entstand das Produkt **21h** mit einer Reinheit von 92.9%. Weitere angestrebte Umsetzungen dieses Produktes, wie in Abschnitt 3.4 beschrieben, wurden nicht verfolgt, da die Reinigung des Produktes sehr zeitaufwendig war und schlechte Ausbeuten ergab.

Für die Synthese des 11-Methyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21i**) wurde die Reaktionstemperatur auf ungefähr $0\text{ }^\circ\text{C}$ erniedrigt, da bei zuvor ausgeführten Reaktionen in Eisessig mit Schwefelsäurezusatz bei Raumtemperatur Nebenprodukte auftraten, die nicht durch Umkristallisation abzutrennen

waren. Dadurch konnten Nebenreaktionen reduziert, jedoch nicht gänzlich eliminiert werden. Wie bei der Verbindung **21h** wurde auch **21i** durch die Diffusionsmethode gereinigt. Die Abbildung 18 zeigt das HPLC-Chromatogramm dieser Charge, wobei das gewünschte Produkt das Signal bei 4.2 min verursacht und durch die Integralfächen-Verhältnis-Methode eine Reinheit von 85.4% ermittelt wurde. Nach der Umkristallisation aus Ethanol wurde ein weiteres HPLC-Chromatogramm angefertigt. Dieses zeigte, dass sich das Signal des Produktes verglichen zu dem der Verunreinigung verkleinert hatte. Entsprechend wies die Verbindung **21i** nach der Umkristallisation nur noch eine Reinheit von 61.9% auf. Dies zeigt, dass eine thermische Behandlung der Substanz **21i** unvorteilhaft ist und sich daher eine Umkristallisation nicht zur Reinigung eignet. Im Rahmen dieser Arbeit gelang keine ausreichende Reinigung des 11-Methyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21i**).

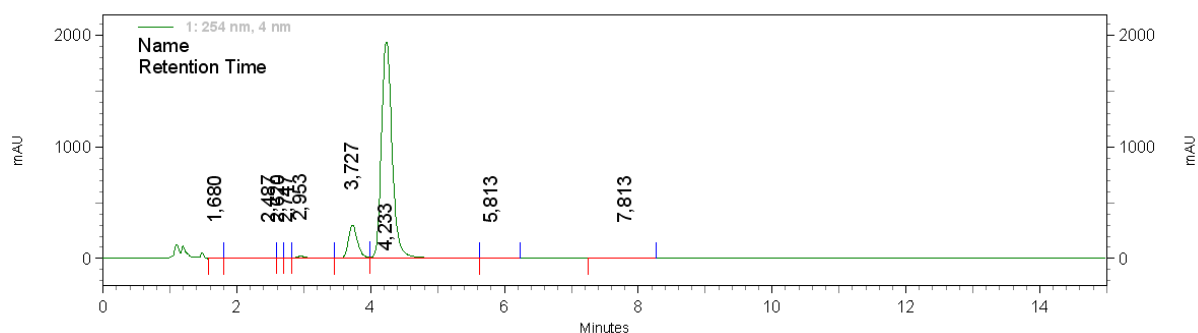


Abbildung 18: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **21i** nach Reinigung durch die Diffusionsmethode.

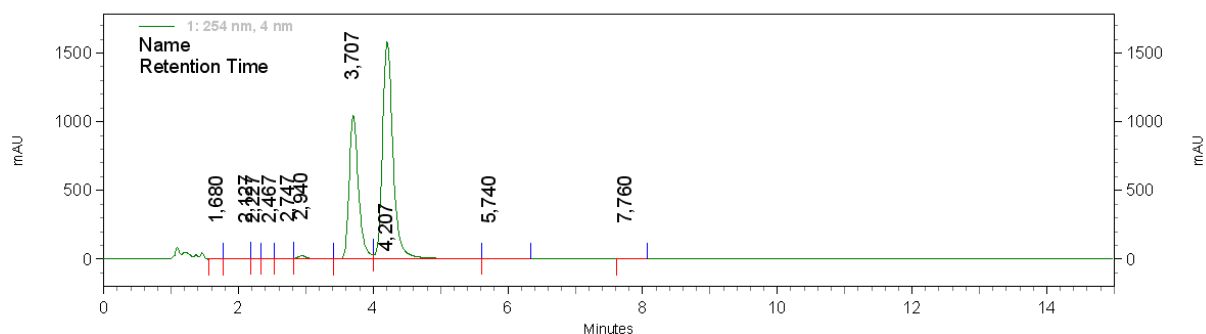
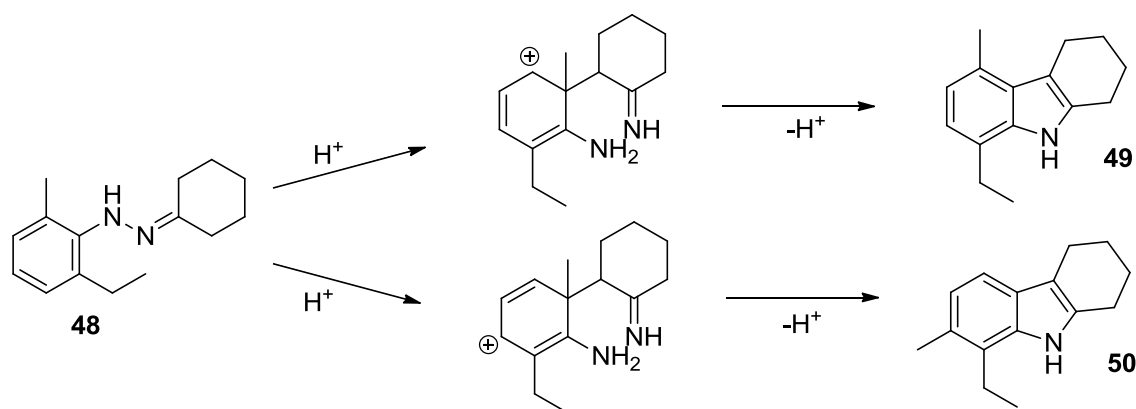


Abbildung 19: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **21i** nach Umkristallisation aus Ethanol.

Um welche Verunreinigung es sich bei Verbindung **21i** handeln könnte, konnte mittels NMR-Spektroskopie nicht eindeutig geklärt werden, da sich die Verschiebungen der Signale von Produkt und Nebenprodukt zu sehr ähneln und es

somit zu Überlagerungen kommt. Anhand der massenspektroskopischen Untersuchungen ist zu erkennen, dass es sich um ein Isomer handeln muss. Mögliche Nebenprodukte zeigt Abbildung 20. In der Literatur werden verschiedene Umlagerungen einer Methylgruppe bei der Fischer-Indol-Synthese beschrieben. Bereits 1959 berichtete CARLIN⁹⁹, dass es zu einer 1,4-Methylwanderung während der Fischer-Indol-Reaktion bei Mesitylphenylhydrazinen mit Cyclohexanon in kochender Essigsäure kommen kann. Auch MILLER und MATJEKA¹⁰⁰ berichten, dass 2-Ethyl-6-methylphenylhydrazon **48** unter Säurekatalyse die Verbindung **50** bildet. Dieses Produkt entsteht nach einer 1,4-Methylwanderung. Wenn eine 1,4-Methylwanderung bei der Synthese von Verbindung **21i** ablaufen würde, wäre das Produkt Verbindung **51**. Außerdem sind auch 1,2-Wanderungen von Methyl- und Halogensgruppen bekannt.^{101, 102} Auch im Falle des 2-Ethyl-6-methylphenylhydrazons **48** wurde eine solche Wanderung beschrieben, die zur Verbindung **49** führt. Verbindung **52** wäre das Produkt einer solchen 1,2-Methylwanderung. Beide Nebenprodukte wären somit theoretisch denkbar, allerdings kann nicht sichergestellt werden, um welches der beiden es sich tatsächlich handelt. Sogar eine 1,5-Methylwanderung konnte bei 2,5-Dimethylphenylhydrazonen beobachtet werden, wie LUIS und BURGUETTE¹⁰³ beschreiben. Diese Wanderung würde in dem speziellen Fall des *ortho*-substituierten Phenylhydrazons **39i** zum gewünschten Produkt **21i** führen.



Schema 14: schematische Darstellung der 1,2- und 1,4-Methylwanderung am Beispiel von 2-Ethyl-6-methylphenylhydrazon **48** nach MILLER und MATJEKA.¹⁰⁰

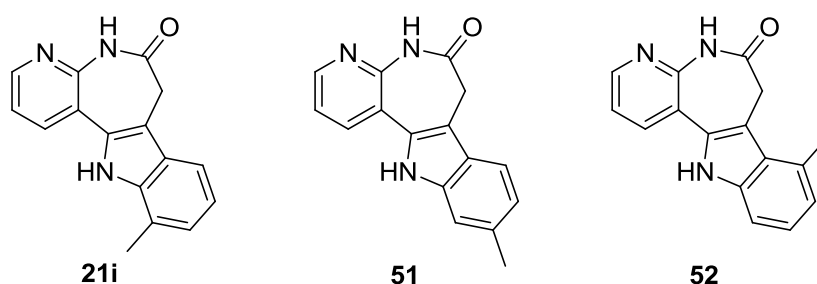


Abbildung 20: mögliche Nebenprodukte (**51** und **52**) aus der Synthese von Verbindung **21i**.

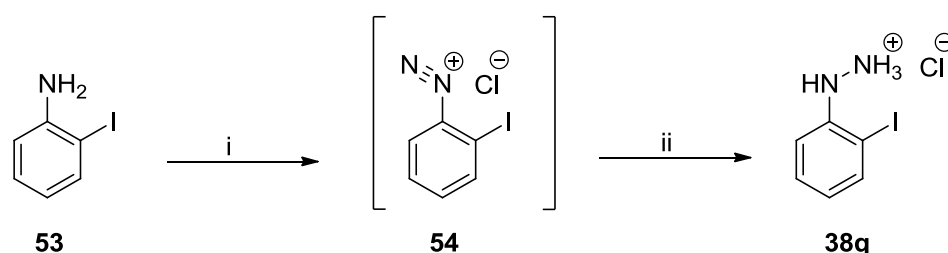
Bei dem für die Synthese der Verbindung **21j** verwendeten 3,5-Dichlorphenylhydrazin (**38j**) handelt es sich um ein symmetrisch substituiertes Phenylhydrazin, welches zwei Reste mit negativem induktivem Effekt trägt. Bei der Umsetzung des Eduktes **30** mit diesem Hydrazin **38j** in Eisessig mit Schwefelsäurezusatz bei 70 °C konnte nur das Hydrazon **39j** isoliert werden. Die negativen induktiven Effekte, die durch die beiden Chloratome am aromatischen Ring ausgeübt werden, wirken sich wiederum negativ auf die säurekatalysierte Fischer-Indol-Synthese aus. Dies zeigten bereits die Synthesen der Verbindungen **21c-e**. Ein Ringschluss auf diese Art und Weise schien daher nicht möglich. Deshalb wurde die Zyklisierung der Zwischenstufe **39j** unter neutralen Bedingungen in siedenden Diphenylether durchgeführt.

Die Verbindung **21k** trägt in der 9-Position ein Fluoratom. Da es sich bei diesem Substituenten um ein Atom mit einem starken negativen induktiven Effekt handelt, wurde zunächst aus den entsprechenden Edukten **30** und **38k** die Zwischenstufe, das Hydrazon **39k**, dargestellt. Dessen Indolisierung wurde durch Erhitzen in Diphenylether induziert, wobei die Verbindung **21k** mit einer Ausbeute von 26.1% erhalten werden konnte.

Bei der Verbindung **21l** handelt es sich um das bereits literaturbekannte 4-Azakenpaullon.¹⁰⁴ Das Produkt **21l** wurde ohne Isolierung der Zwischenstufe **39l** in Eisessig mit Schwefelsäurezusatz bei 70 °C erhalten.

Das 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**) wurde sowohl mit als auch ohne Isolierung des Zwischenprodukts **39m** in Eisessig mit Schwefelsäurezusatz bei 70 °C synthetisiert. Da die Verbindung **21m** als Ausgangsstoff für weitere Synthesen dienen sollte, wie in Abschnitt 3.3.1 beschrieben wird, bot es sich an, den Schritt der Zwischenproduktisolierung zu übergehen.

Bei den Verbindungen **21n-q** handelt es sich um 11-Halogen-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-one. Die für die Synthese eingesetzten 2-Halogenphenylhydrazine **38n-q** tragen Substituenten, die einen negativen induktiven Effekt aufweisen. Trotz induktiver Effekte kann anhand dieser Reihe gezeigt werden, dass eine säurekatalysierte Fischer-Indol-Synthese möglich ist. Gut zu sehen ist, dass mit ansteigender Ordnungszahl der Halogenatome die Reaktionstemperatur erhöht werden musste, damit eine Zyklisierung stattfand. So lief die Umsetzung von Verbindung **30** mit dem 2-Fluorphenylhydrazin (**38n**) bereits bei Raumtemperatur ab. Für die Synthesen der 11-Chlor- und 11-Brom-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-one (**21o** und **21p**) wurde bereits eine Temperatur von 40 °C benötigt. Die Reaktion des Eduktes **30** mit dem 2-Iodphenylhydrazin lief schließlich bei 70 °C ab, wodurch Verbindung **21q** gewonnen wurde. Der Tabelle 2 ist weiterhin zu entnehmen, dass das 11-Fluor-4-azapaulon **21n** auch nach Isolierung des Hydrazons **39n** in einer thermisch induzierten Fischer-Indol-Reaktion erhalten wurde. Sowohl bei der säurekatalysierten als auch bei der thermisch induzierten Indolisierung konnte das gewünschte Produkt **21n** erhalten werden. Jedoch gelang es im Rahmen dieser Arbeit nicht, die entstandenen Nebenprodukte abzutrennen, weshalb Verbindung **21n** nur mit einem maximalen Gehalt von 80.4% bereitgestellt werden konnte.



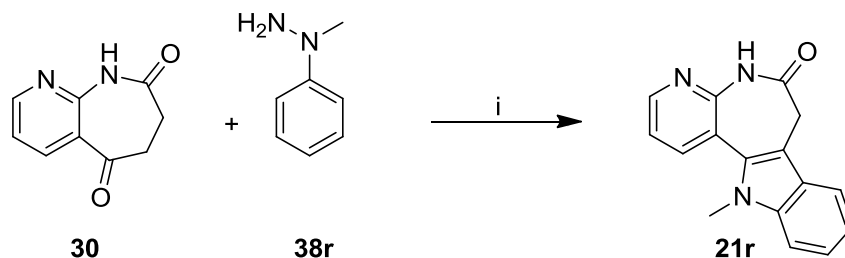
Schema 15: Synthese des 2-Iodphenylhydrazin-Hydrochlorids (**38q**)

Reagenzien und Bedingungen: i) NaNO_2 , HCl , H_2O , 0 °C, 30 min; ii) 1. $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HCl , 0 °C, 2. TBME, 3. HCl (g), 0 °C.

Für die Synthese der Verbindung **21q** wurde zunächst das Phenylhydrazin **38q** aus 2-Iodanilin nach HUMBER et al.¹⁰⁵ synthetisiert. Dabei wurde zuerst das Edukt **53** mit Natriumnitrit diazotiert und anschließend ohne Isolierung des Zwischenproduktes **54** mit Zinn(II)-chlorid reduziert.

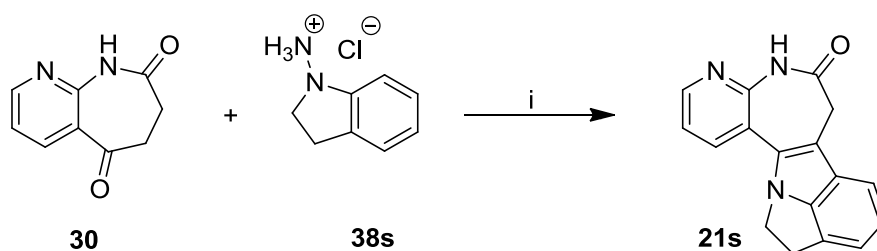
Die im Folgenden besprochenen Reaktionen finden sich der Übersicht halber nicht in der Tabelle 2 wieder.

Die Synthese des 12-Methyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21r**) wurde analog zu einer Vorschrift von STUKENBROCK¹⁰⁶ unter Einsatz des Eduktes **30** und des entsprechenden Phenylhydrazins **38r** in Eisessig bei 70 °C durchgeführt. Im Schema 16 ist die Reaktion dargestellt.



Schema 16: Synthese des 12-Methyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21r**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Eisessig, 70 °C, 2 h.

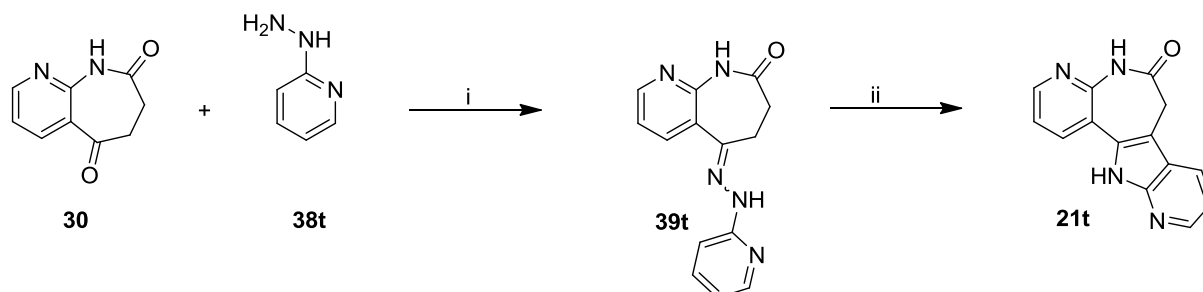


Schema 17: Synthese des 5,7,11,12-Tetrahydro-6*H*-pyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]pyrrolo[3,2,1-*h*]indol-6-ons (**21s**)

Reagenzien und Bedingungen: i) NaOAc, Eisessig, MW, 120 °C, 30 min.

Die Synthese des 5,7,11,12-Tetrahydro-6*H*-pyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]pyrrolo[3,2,1-*h*]indol-6-ons (**21s**) stellte eine Herausforderung dar. Alle Reaktionsansätze, bei denen die Verbindung **30** mit dem 1-Aminoindolin-Hydrochlorid (**38s**) in Eisessig umgesetzt wurde, führten lediglich zur erneuten Isolierung des Eduktes **30**. Auch unter Variation der Reaktionstemperaturen konnte keine Umsetzung erzielt werden. Da mittlerweile auch mikrowellengestützte Fischer-Indol-Synthesen^{107, 108} bekannt sind, wurden die Bedingungen nach CHEN et al.¹⁰⁸ übernommen. So wurde Edukt **30** mit der Verbindung **38s** in Eisessig bei 120 °C in der Mikrowelle mit einem maximalen Druck von 150 PSI und 100 W umgesetzt. Nach 30 min konnte ein vollständiger Umsatz des Eduktes **30** mittels Dünnschichtchromatographie verzeichnet werden. Der Reaktionsansatz wurde unter bekannten Bedingungen aufgearbeitet. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung und

anschließender Umkristallisation aus Ethanol konnte das Produkt **21s** mit einer Ausbeute von 3.2% erhalten werden. Die Verbindung **21s** ist der erste Vertreter eines zuvor noch nicht beschriebenen pentazyklischen Ringsystems.



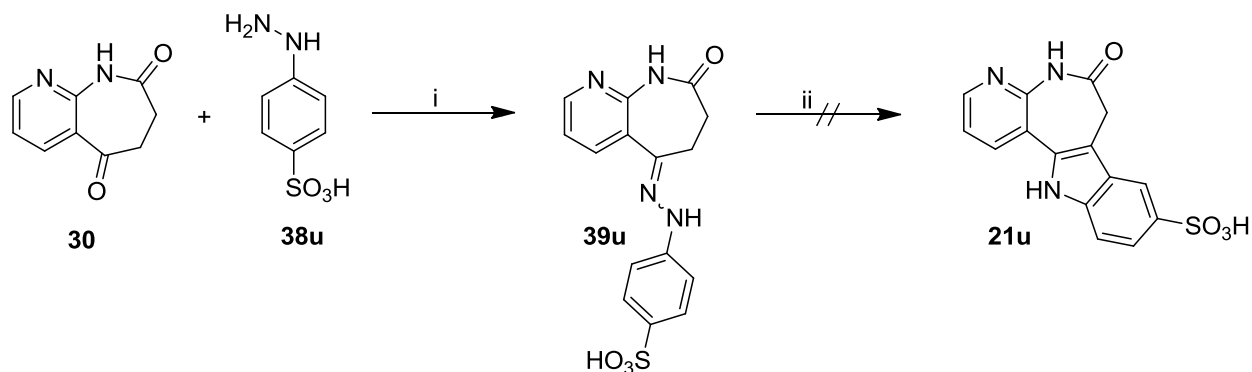
Schema 18: Synthese des 7,12-Dihydropyrido[2,3-*b*]pyrido[3',2':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]azepin-6(5*H*)-ons (**21t**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Eisessig, 70 °C, 5 h; ii) Ph₂O, Δ.

Auch die Synthese des 7,12-Dihydropyrido[2,3-*b*]pyrido[3',2':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]azepin-6(5*H*)-ons (**21t**) gelang nicht auf Anhieb. Erste Versuche der Umsetzung in Eisessig bei 70 °C mit Schwefelsäure führten lediglich zu einer Wiedergewinnung des Eduktes **30**. In einer Publikation von OKUDA und ROBINSON¹⁰⁹ im Jahre 1959 wurde die Synthese von 5,6,7,8-Tetrahydro-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol beschrieben. Dieses wurde durch die Umsetzung des Hydrazons in Polyphosphorsäure erhalten. Leider konnte diese Vorschrift nicht übernommen werden, da die Isolierung des Hydrazons **39t** nicht gelang. Jedoch wurde bereits die Synthese eines strukturverwandten Paullonanalogons von KUNICK et al.⁷⁶ beschrieben. Nach dieser Vorschrift wurde zur Reaktionslösung nach Beendigung der Reaktion mit wässriger Natriumacetatlösung zusätzlich Ammoniaklösung gegeben. Dadurch entstand ein Niederschlag, bei dem es sich um das Hydrazon **39t** handelte. Das Zwischenprodukt **39t** wurde anschließend der thermischen Indolisierung in Diphenylether unterzogen. Auf diese Weise konnte das Produkt **21t** erhalten werden.

Die Synthese der 6-Oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-sulfonsäure (**21u**) gelang bisher nicht. Bei der Umsetzung des Edukts **30** mit dem entsprechenden Hydrazin (**38u**) in Eisessig bei 70 °C konnte sowohl mit Schwefelsäurezugabe als auch ohne Säurezusatz nur das Hydrazon **39u** isoliert werden. Da die funktionelle Gruppe des Hydrazins **38u** einen stark negativen induktiven Effekt aufweist, wäre es möglich, dass die Indolisierung thermisch

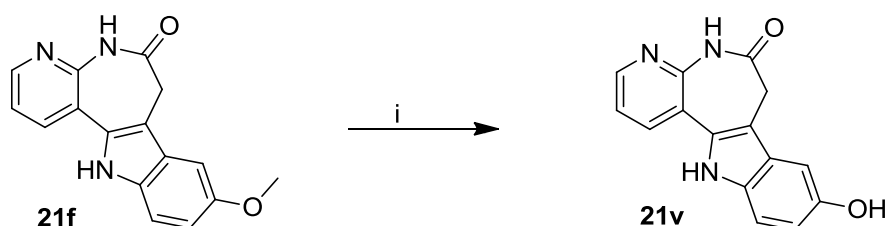
induziert abläuft. Die Durchführung dieses Versuchs war im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr möglich.



Schema 19: Versuche zur Synthese der 6-Oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-sulfonsäure (**21u**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Eisessig, 70 °C, 2 h; ii) H₂SO₄, Eisessig, 70 °C.

Bei der letzten Verbindung dieses Abschnitts handelt es sich um die Umsetzung des bereits besprochenen 9-Methoxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21f**). Dieses wurde mittels Bortribromid demethyliert. Dadurch wurde Verbindung **21v** erhalten. Ausgehend von dieser Verbindung **21v** sollten weitere Reaktionen durchgeführt werden, welche im Abschnitt 3.4 beschrieben werden.



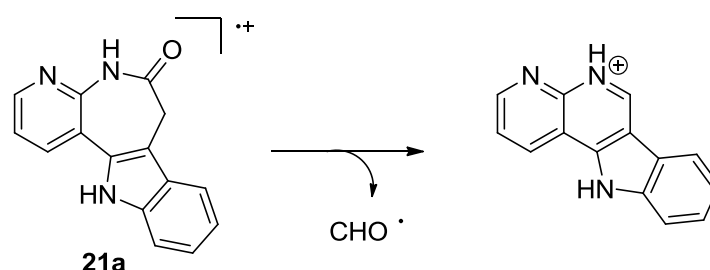
Schema 20: Synthese des 9-Hydroxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21v**)

Reagenzien und Bedingungen: i) BBr₃, DCM, RT, 3 h.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang es, 18 neue, literaturunbekannte 4-Azapauillone zu synthetisieren, von denen 3 nicht für die biologischen Testungen geeignet waren, da sie nicht den Reinheitsanforderungen entsprachen (**21g**, **21i**, **21n**).

Von allen 4-Azapauillonen **21a-v** wurden Massenspektren angefertigt. Auffällig bei den Spektren war, dass stets ein Fragment mit einer Massendifferenz $m/z = 29$ vom Molekülionenpeak aus detektiert werden konnte. Für das abgespaltene Teilchen

kommen entweder CHO^\bullet oder $\text{C}_2\text{H}_5^\bullet$ in Frage.¹¹⁰ Um zu klären, worum es sich bei diesem Teilchen handeln könnte, wurden hochaufgelöste Massenspektren der Verbindung **21a** sowohl vom Molekülionenpeak als auch vom $[\text{M}-29]^+$ -Peak aufgenommen. Durch die ermittelten präzisen Massen kann nun anhand der Differenz beurteilt werden, um welches der beiden in Frage kommenden Teilchen es sich handelt. Die Differenz der beiden exakten Massen betrug 29.00242. Die Masse für $\text{C}_2\text{H}_5^\bullet$ beträgt 29.03913 und die von CHO^\bullet 29.00274. Dieses Ergebnis deutet also darauf hin, dass es zu der Abspaltung des CHO^\bullet -Fragments kommt. Betrachtet man den in Schema 21 vorgeschlagenen Fragmentierungsverlauf von **21a**, so wird klar, dass die Abspaltung von CHO^\bullet zu einer Ringverkleinerung und einer Aromatisierung des entstehenden Sechsrings führt. Dieser günstige Zustand ist die Triebkraft der Fragmentierungsreaktion.

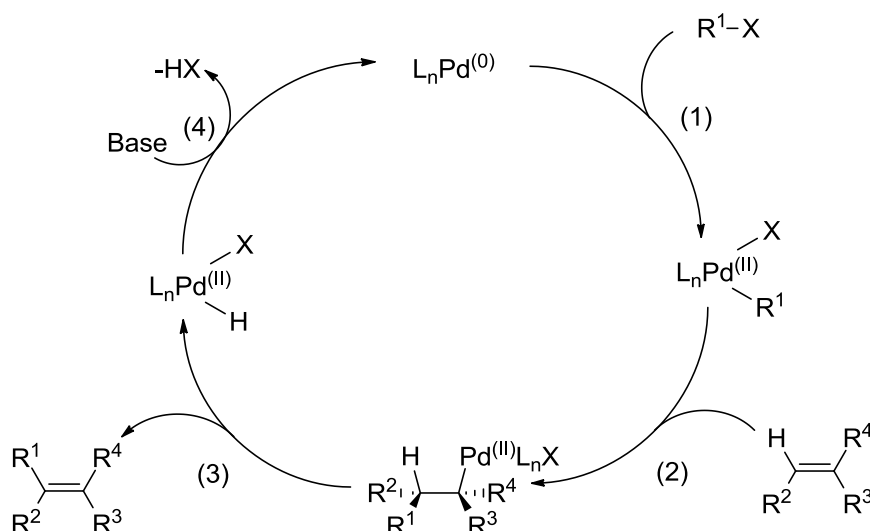


Schema 21: postulierte Fragmentierungsreaktion der Verbindung **21a**.

3.3. Umsetzungen der 9-Iod- bzw. 11-Iod-4-azapaullone (**21m** bzw. **21q**) mittels Heck-Reaktion

Sowohl Paullon-Chalkon-Hybride als auch Paullon-Zimtsäureamid-Hybride weisen antiparasitäre Aktivitäten auf.^{111, 112} Deshalb wurden in dieser Arbeit neue Hybride synthetisiert, die sich von den bisher bekannten durch ein Stickstoffatom in der 4-Position des Paullongrundgerüsts und durch die Anknüpfungsstelle der Substituenten unterscheiden. REICHWALD hat in ihrer Dissertation eine Methode zur Umsetzung von 2-Iodpaullon mit Keton-Mannichbasen entwickelt.¹¹³ In Anlehnung an diese Methode dienten die 9-Iod- und 11-Iod-4-azapaullone (**21m** und **21q**) als Ausgangsstoffe für weitere Umsetzungen.

Seit ihrer Entdeckung in den frühen 1970er Jahren ist die Heck-Reaktion eine beliebte und vielseitig einsetzbare C-C-Bindungsknüpfungsreaktion. Die Vorteile dieser Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktion bestehen in der Toleranz gegenüber den funktionellen Gruppen der Reaktionspartner und der geringen Sensitivität gegenüber Wasser.⁸⁸ Der Mechanismus der Heck-Reaktion ist nicht vollständig geklärt. Vereinfachend kann der Mechanismus in vier Schritte gegliedert werden (siehe auch Schema 22): Die oxidative Addition (1) der Halogenverbindung an den Palladiumkatalysator, gefolgt von der migratorischen Insertion (2) des Olefins. Durch die β -Hydrid-Eliminierung (3) wird das trans-Alken mit der neu geknüpften C-C-Bindung frei und im Schritt der reduktiven Eliminierung (4) wird der Katalysator regeneriert.⁹⁰



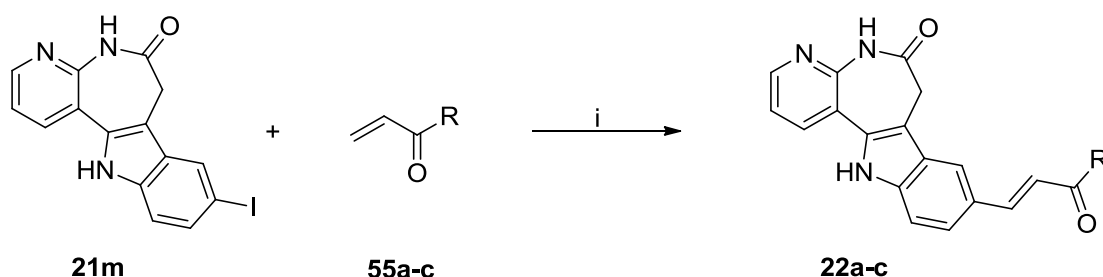
Schema 22: Mechanismus der Heck-Reaktion.⁸⁸

Für die Synthese der 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybride (**22a-c** und **24a-c**) wurden die Acrylamide **55a-c** benötigt. Die Synthese des *N,N*-Diethylacrylamids (**55a**) und des *N*-Benzylacrylamids (**55c**) erfolgte nach der Vorschrift von KUHNER et al.¹¹⁴. Das *N*-Phenylacrylamid (**55b**) wurde nach einer publizierten Methode von ERIKSSON et al.¹¹⁵ synthetisiert.

3.3.1. Umsetzung des 9-Iod-4-azapauillons (**21m**)

Zunächst werden im folgenden Abschnitt die Umsetzungen des 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21m**) mit Acrylamiden (**55a-c**)

zu den entsprechenden Paullon-Zimtsäureamid-Hybriden besprochen. Das Schema 23 zeigt die Reaktionsgleichung und in Tabelle 3 sind die Reste der eingesetzten Acrylamide **55a-c** und die der entstandenen Produkte **22a-c** dargestellt.



Schema 23: Umsetzung von 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**) mit Acrylamiden (**55a-c**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Pd(OAc)₂, Et₃N, DMF, 100 °C, 40 min, MW.

Tabelle 3: Reste der verwendeten Acrylamide **55a-c** und der synthetisierten Verbindungen **22a-c**.

Verbindung 55 bzw. 22	a	b	c
Rest R			

Dass die Synthese der Verbindung **22a** mit der von REICHWALD¹¹⁶ entwickelten Methode funktioniert, ließ sich mittels ¹H-NMR-Untersuchungen beweisen. Jedoch gelangen die Reinigung und das Erreichen einer akzeptablen Ausbeute nicht. Um die Ausbeute zu verbessern, wurden weitere Methoden der Umsetzung in einer Heck-Reaktion recherchiert. Die mikrowellengestützte Synthese stach auf Grund der relativ kurzen Reaktionszeiten¹¹⁷⁻¹¹⁹ besonders hervor. Des Weiteren zeigen sowohl LARHED et al.¹¹⁷ als auch BUNCE et al.¹²⁰, dass es bei einer mikrowellengestützten Synthese im Vergleich zu einer konventionellen Methode oder auch zum geschlossenen System zu Ausbeutesteigerungen kommt. Von YILMAZ et al.¹²¹ wird außerdem berichtet, dass eine vergleichsweise niedrigere Reaktionstemperatur ausreicht.

In Anlehnung an ZHANG et al.¹¹⁹ wurde Verbindung **21m** mit *N,N*-Diethylacrylamid (**55a**) unter Beibehaltung des Lösungsmittels DMF, der Base Triethylamin und des

Katalysators Palladium(II)-acetat in der Mikrowelle bei 100 °C, einem maximalen Druck von 150 PSI und 100 W für 40 min umgesetzt.

Nachdem die Reaktionsbedingungen verändert wurden, musste die Aufarbeitung optimiert werden. Durch eine säulenchromatographische Reinigung waren sehr hohe Produktverluste festzustellen. Nach der Methode von REICHWALD¹¹⁶ wird das Lösungsmittel des Reaktionsansatzes mit Kieselgelzusatz unter vermindertem Druck abdestilliert und anschließend wird der Rückstand auf eine mit Kieselgel beschichtete Fritte aufgetragen und mit Ethylacetat eluiert. Es zeigte sich, dass die 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybride aus der Reaktionslösung bei Zusatz von Ethylacetat als Niederschlag ausfallen. So wurde die heiße Reaktionslösung über eine mit Kohle zugesetzte Fritte filtriert und mit Ethylacetat behandelt. Bei dem ausfallenden Niederschlag handelt es sich um das gewünschte Produkt. Nach anschließender Umkristallisation des Niederschlags aus Ethanol konnte auf diese Weise Verbindung **22a** mit einer Ausbeute von 33.3% erhalten werden.

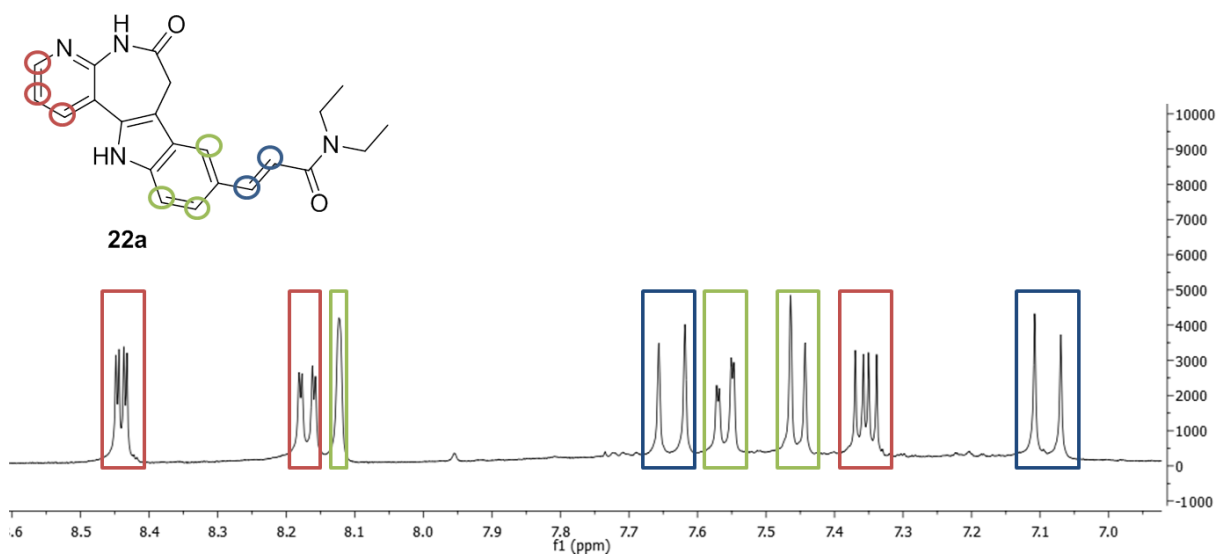


Abbildung 21: Ausschnitt des ¹H-NMR-Spektrums der Verbindung **22a**.

Die Abbildung 21 zeigt einen Ausschnitt des ¹H-NMR-Spektrums der Verbindung **22a**. Rot umrandet sind dort die Signale der Protonen des Pyridinrings, grün die der aromatischen Protonen des substituierten Benzylrings und in blau sind die Signale der olefinischen Protonen gekennzeichnet. Die Protonen der Doppelbindung koppeln miteinander und erzeugen somit jeweils ein Dublett. Diese Dubletts weisen je eine Kopplungskonstante von 15.3 Hz auf. Diese Größenordnung für Kopplungskonstanten spricht für die (*E*)-Konfiguration¹¹⁰ der Doppelbindung.

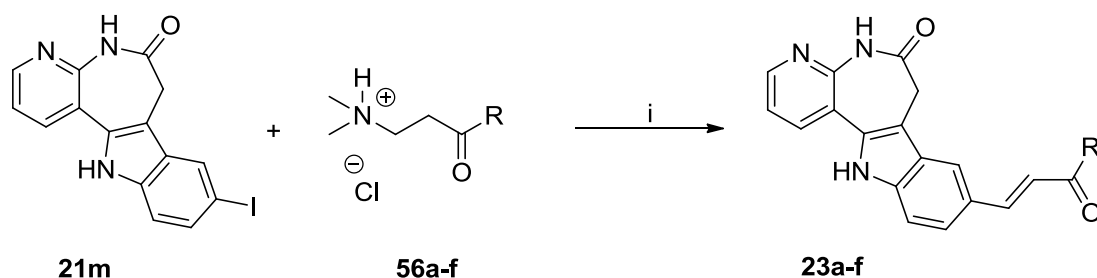
Auch die Synthese der Verbindungen **22b** und **22c** war unter Verwendung der neuen Methode möglich. Dass die Synthese dieser Verbindungen gelang und dass es sich bei allen um ein trans-Alken handelte, war anhand der ^1H -NMR-Spektren zu erkennen. Auch hier wiesen die Dubletts der olefinischen Protonen Kopplungskonstanten von ca. 15 Hz auf. Die Verbindungen **22a-c** konnten in Ausbeuten von 36.4 – 29.2 % erhalten werden.

Nachdem die Synthese der Paullon-Zimtsäureamid-Hybride (**22a-c**) ausgehend von 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**) beschrieben wurde, sollen nun die Umsetzungen desselben mit den Keton-Mannichbasen (**56a-f**) dargestellt werden. Das Schema 24 zeigt die Reaktionsgleichung und die verwendeten Reste der Verbindungen **56** und **23** sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Bei der Umsetzung von Keton-Mannichbasen macht man sich die thermische Zersetzung zu Nutze, von der VAN MARLE et al.¹²² schon im Jahr 1903 berichtete. Bei der thermischen Zersetzung entsteht ein Alken, welches in einer Heck-Reaktion weiterreagieren kann. Diese *in-situ* Darstellung des Alkens mit anschließender Heck-Reaktion wurde von REICHWALD¹¹³ entwickelt und optimiert.

Für die Umsetzung des 9-Iod-4-azapaullons (**21m**) wurden die Bedingungen von REICHWALD¹¹³ übernommen. Dafür wird Verbindung **21m** mit einer der Keton-Mannichbasen **56** in DMF unter Verwendung des Palladium(II)-acetats als Katalysator und Triethylamin als Base bei 150 °C umgesetzt. Mit dieser Methode gelang die Synthese und Isolierung der Verbindung **23a**. Die säulenchromatographische Aufarbeitung zur Reinigung des Produktes **23a** stellte sich auch hier als ungeeignet heraus. Auf Grund der schlechten Löslichkeit der Verbindung wurde die Aufarbeitung dahingehend geändert, dass die Reaktionslösung über eine Kohlefritte heiß filtriert und anschließend mit Ethylacetat versetzt wurde. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Wurde das Filtrat mit *n*-Hexan versetzt, kam es zu einer erneuten Niederschlagsbildung. Bei beiden Niederschlägen handelte es sich um das Produkt, wobei der Niederschlag aus *n*-Hexan weniger verunreinigt war. Nach Umkristallisation des Niederschlags aus Ethanol konnte das gereinigte Produkt erhalten werden. Auf diese Weise konnten analog zur Synthese der Verbindung **23a** die Produkte **23b-f** gewonnen werden. Die Verbindungen **23a-f** zeigten in den ^1H -NMR-Spektren je zwei Dubletts der beiden olefinischen Protonen, die eine

Kopplungskonstante von ca. 15 Hz aufwiesen. Die Ausbeuten dieser Synthesen lagen zwischen 3.2% und 22.0%. Für die Verbindungen **23a-d** konnten Reinheiten von über 90% erreicht werden. Im Rahmen dieser Arbeit gelang keine ausreichende Reinigung der Produkte **23e** und **23f**.



Schema 24: Umsetzung von 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**) mit Keton-Mannichbasen (**56a-f**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Pd(OAc)₂, Et₃N, DMF, 140 °C, 1 h.

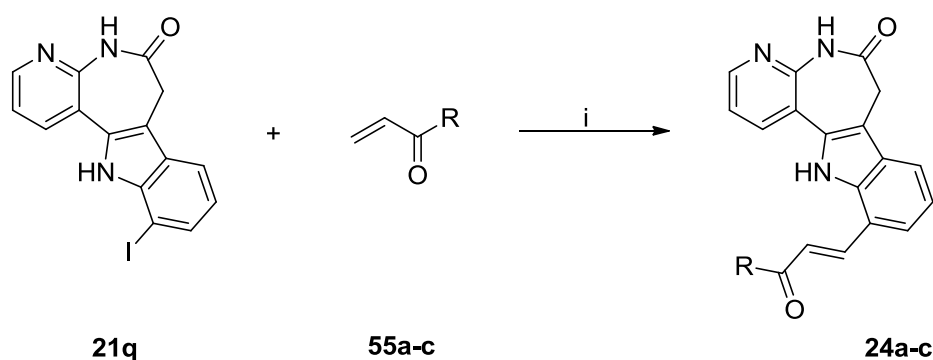
Tabelle 4: Reste der verwendeten Keton-Mannichbasen **56a-f** und der synthetisierten Verbindungen **23a-f**.

Verbindung 56 bzw. 23	Rest R	Verbindung 56 bzw. 23	Rest R
a		d	
b		e	
c		f	

Die Verbindung **23c** konnte auch unter Verwendung des Synthesemikrowellen-gerätes, das auch bei den Umsetzungen der Acrylamide **55a-c** zum Einsatz kam, synthetisiert werden. Da die Keton-Mannichbasen bei ihrer thermischen Zersetzung Dimethylamin freisetzen, steigt der Druck im Reaktionsgefäß allerdings stark an, so dass es zu Problemen beim Programmablauf des Gerätes kommt. Dies limitiert den Einsatz des mikrowellengestützten Syntheseverfahrens.

3.3.2. Umsetzung des 11-Iod-4-azapauillons (21q)

Analog zu den Umsetzungen des 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21m**) erfolgte auch die des 11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]-azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21q**) mit den Acrylamiden **55a-c** in DMF, mit Triethylamin als Base und Palladium(II)-acetat als Katalysator bei 100 °C in dem Mikrowellensynthesegerät zu den 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybriden **24a-c**. Das Schema 25 zeigt die Reaktionsgleichung und in der Tabelle 5 werden die Reste der verwendeten Acrylamide **55a-c** und die der resultierenden Verbindungen **24a-c** aufgeführt.



Schema 25: Umsetzung von 11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21q**) mit Acrylamiden (**55a-c**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Pd(OAc)₂, Et₃N, DMF, 100 °C, 40 min, MW.

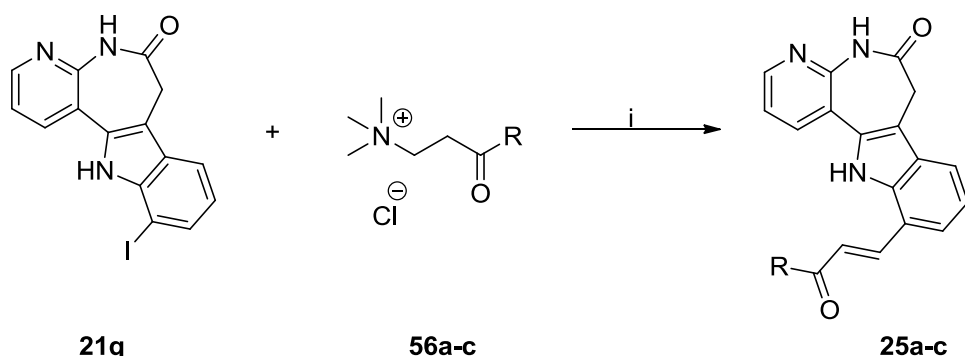
Tabelle 5: Reste der verwendeten Acrylamide **55a-c** und der synthetisierten Verbindungen **24a-c**.

Verbindung 55 bzw. 24	a	b	c
Rest R			

Dass die Synthese gelang, zeigt das ¹H-NMR-Spektrum anhand der beiden Dubletts der olefinischen Protonen, die eine Kopplungskonstante von ca. 15 Hz aufweisen. Die Verbindungen **24a** und **24c** konnten mit einer Ausbeute von 22.7 – 31.8% erhalten werden. Die Ausbeute der Verbindung **24b** belief sich sogar auf 80.4%.

Die Herstellung der 4-Azapauillon-Chalkon-Hybride **25a-c** ausgehend von 11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21q**) erfolgte analog zu der Umsetzung des 9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**21m**) mit den Keton-Mannichbasen **56a-c**. Die Reaktion zeigt das Schema 26 und die Reste der jeweiligen Verbindung **56** bzw. **25** finden sich in der Tabelle 6.

Auch die Verbindungen **25a-c** konnten auf Grund ihrer schlechten Löslichkeit ausgefällt werden. Die Produkte weisen in den jeweiligen ¹H-NMR-Spektren Dubletts mit Kopplungskonstanten von ca. 15 Hz der olefinischen Protonen auf. Die Ausbeuten beliefen sich auf 6.0 – 48.8%.



Schema 26: Umsetzung von 11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21q**) mit Keton-Mannichbasen (**56a-c**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Pd(OAc)₂, Et₃N, DMF, 140 °C, 1 h.

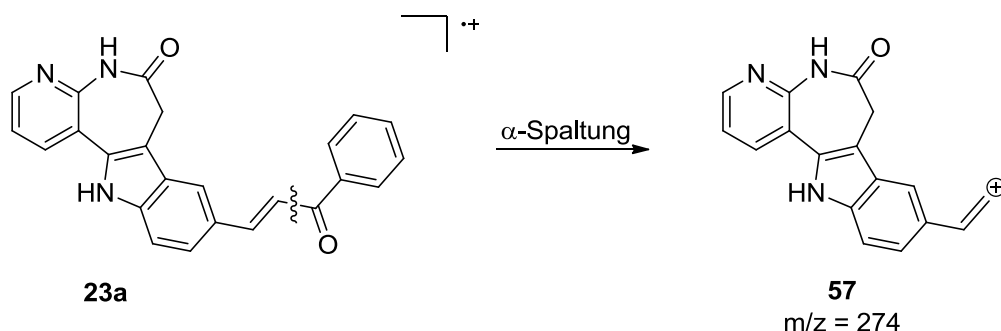
Tabelle 6: Reste der verwendeten Keton-Mannichbasen **56a-c** und der synthetisierten Verbindungen **25a-c**.

Verbindung 56 bzw. 25	a	b	c
Rest R			

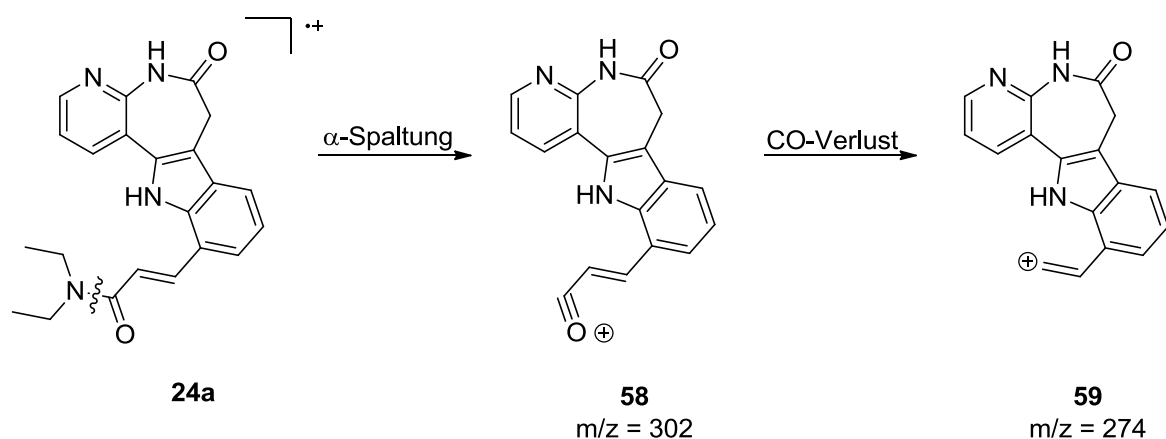
Durch die angepasste Aufarbeitung und die optimierte Reaktionsführung in Bezug auf die Umsetzung der Acrylamide **55a-c** gelang es im Rahmen dieser Arbeit, 15 neue Verbindungen mit α,β -ungesättigten Substituenten zu synthetisieren, von denen die Reinigung zweier Produkte (**23e** und **23f**) nicht ausreichend gelang.

Von den 4-Azapauillon-Chalkon-Hybriden (**23a-f** bzw. **25a-c**) wurden Massenspektren angefertigt. Neben dem bereits in Abschnitt 3.2. beschriebenen möglichen

Fragmentierungsschritt, der Abspaltung des CHO^\bullet -Teilchens, wurde stets ein weiteres Signal bei $m/z = 274$ detektiert. Dieses Fragment-Ion könnte durch eine mögliche α -Spaltung entstanden sein, wie es in Schema 27 beispielhaft an Verbindung **23a** dargestellt ist.



Schema 27: postulierte Fragmentierungsreaktion der Verbindung **23a**.



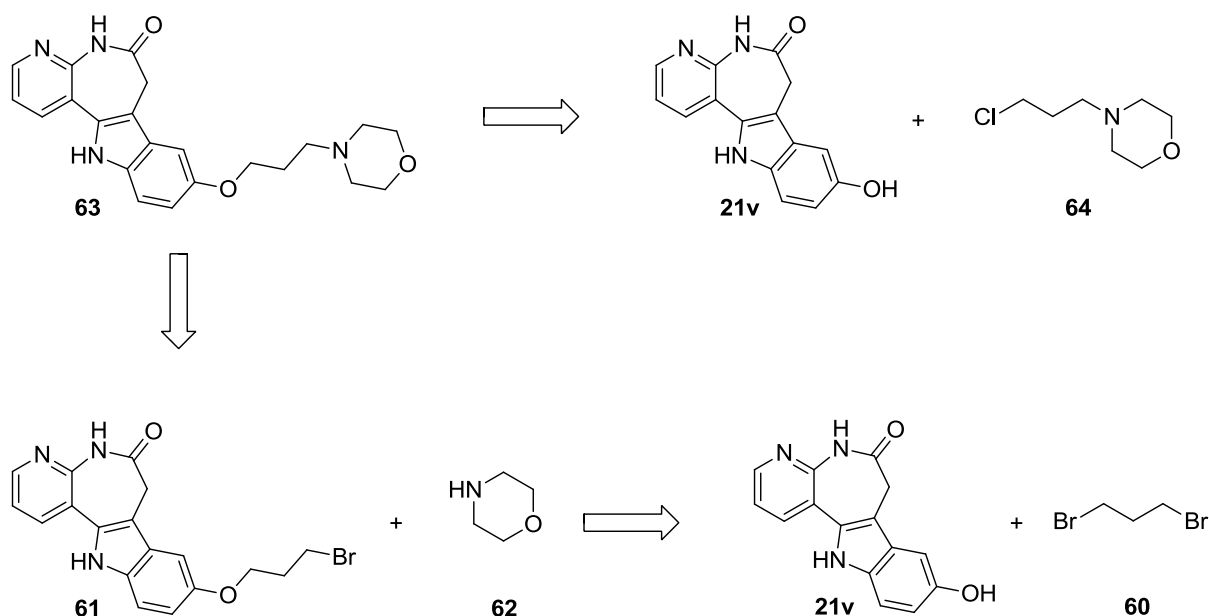
Schema 28: postulierte Fragmentierungsreaktion der Verbindung **24a**.

Bei den Massenspektren der 4-Azapaullon-Zimtsäureamid-Hybride (**22a-c** bzw. **24a-c**) wurde ebenfalls das Fragment-Ion mit $m/z = 274$ detektiert. Des Weiteren fällt in den Spektren der Verbindungen das Signal mit $m/z = 302$ auf. Nach Betrachtung der entsprechenden Verbindungen wäre eine Vermutung zum Fragmentierungsprozess wieder eine α -Spaltung. Nur wird wahrscheinlich die andere α -Bindung der Carbonylfunktion gespalten, wobei die positive Ladung am Sauerstoffatom stabilisiert wird. Dieses Fragment-Ion weist ein $m/z = 302$ auf. Durch einen anschließenden CO-Verlust entsteht vermutlich das Fragment **59** (siehe Schema 28 am Beispiel der Verbindung **24a**).

3.4. Umsetzung von 9-Hydroxy-4-azapaullon (21v)

Da die Löslichkeit der 4-Azapaullone im Allgemeinen schlecht ist, sollte diese durch Anknüpfung einer ionisierbaren aminhaltigen Seitenkette verbessert werden. Ausgehend von Verbindung **21v** sollte über eine Etherbrücke die Seitenkette eingeführt werden.

Das Schema 29 zeigt das Retrosyntheschema der geplanten Verbindung **63**. Diese könnte über zwei Wege gewonnen werden: zum einen direkt durch die Umsetzung der Verbindung **21v** mit dem 4-(3-Chlorpropyl)morpholin (**64**) oder zum anderen durch eine zweistufige Synthese, bei der zunächst eine Halogenalkylseitenkette angeknüpft wird, die durch weitere Umsetzung mit Morpholin (**62**) zum gewünschten Produkt **63** führt.



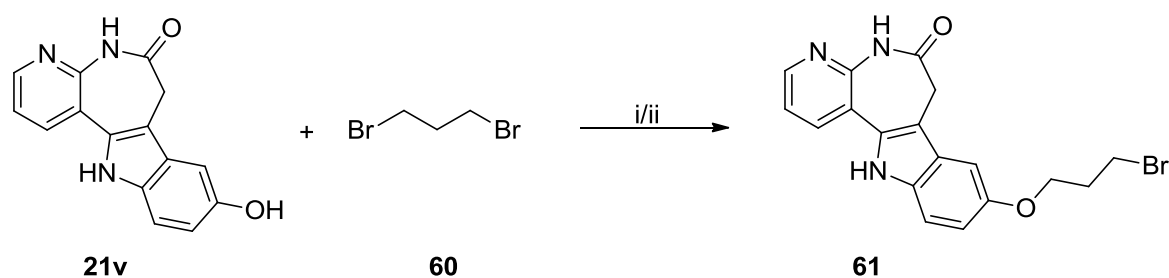
Schema 29: Retrosynthese des 9-(3-Morpholinopropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]-azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**63**).

3.4.1. Umsetzung mit 1,3-Dibrompropan und Morpholin

Die Umsetzung von Hydroxyverbindungen mittels Williamson-Ethersynthese unter Verwendung von 1,3-Dibrompropan (**60**) wurde von PRÜHS¹²³ an Darponen getestet. REICHWALD¹²⁴ hat diese Methode für 9-*tert*-Butyl-2-hydroxypaullone übernommen.

Durch Zugabe von Kaliumcarbonat wird die Hydroxylfunktion deprotoniert und kann so mit dem 1,3-Dibrompropan (**60**), welches im zehnfachen Überschuss zugefügt wird, reagieren.

Die Umsetzung der Verbindung **21v** mit 1,3-Dibrompropan (**60**) in siedendem Aceton in Gegenwart von Kaliumcarbonat zum 9-(3-Brompropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**61**) wurde wie Schema 30 zeigt durchgeführt. Nach fünf Tagen konnte ein neuer Fleck neben dem des Edukts **21v** auf dem Dünnschichtchromatogramm detektiert werden. Durch säulenchromatographische Reinigung konnte das Produkt **61** mit einer Ausbeute von 8.3% erhalten werden. Des Weiteren konnte das nicht umgesetzte Edukt **21v** aus der Reaktion wiedergewonnen werden.

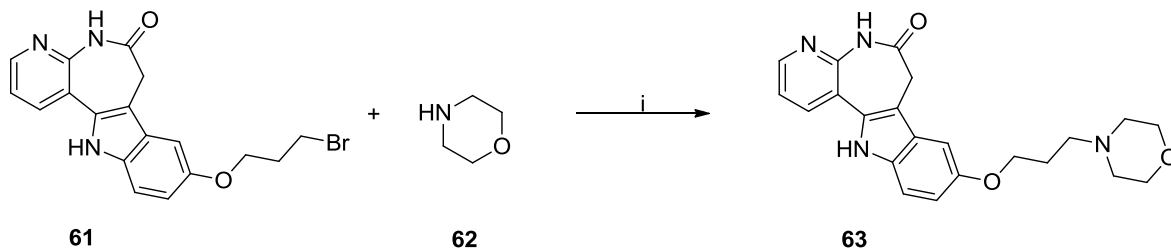


Schema 30: Synthese des 9-(3-Brompropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**61**)

Reagenzien und Bedingungen: i) K_2CO_3 , Aceton, Δ , 5 d oder ii) K_2CO_3 , DMF, RT, 24 h.

Dass bei dieser Reaktion keine vollständige Umsetzung in Aceton erfolgt, lässt sich auf die mangelnde Löslichkeit des Edukts **21v** zurückführen. Deshalb wurden die Reaktionsansätze sowohl in DMSO als auch in DMF unter Beibehaltung der Base Kaliumcarbonat getestet. Nach einer Methode von Li et al.¹²⁵ wurde die Reaktion im Lösungsmittel DMSO mit Kaliumcarbonat und einen starken Überschuss des 1,3-Dibrompropans (**60**) bei 60 °C durchgeführt. Anhand des HPLC-Chromatogramms ließ sich das Produkt **61** identifizieren, jedoch auch viele weitere Nebenprodukte, die durch mehrfache Substitutionen wie zum Beispiel am N^5 - oder N^{12} -Atom entstanden sein könnten. Des Weiteren war auch hier kein vollständiger Umsatz zu verzeichnen. Demzufolge erschien diese Methode zur Synthese von Verbindung **61** nicht geeignet. Die Reaktion des Edukts **21v** mit Verbindung **60** in DMF bei Raumtemperatur wurde in Anlehnung an eine Methode von Liu et al.¹²⁶ durchgeführt. Anhand des HPLC-Chromatogramms konnte das Produkt **61** nachgewiesen werden.

Zwar war die Reaktionsdauer mit 24 h recht lang, jedoch schien diese Methode vielversprechend. Allerdings bedarf es noch weiterer Optimierungen.



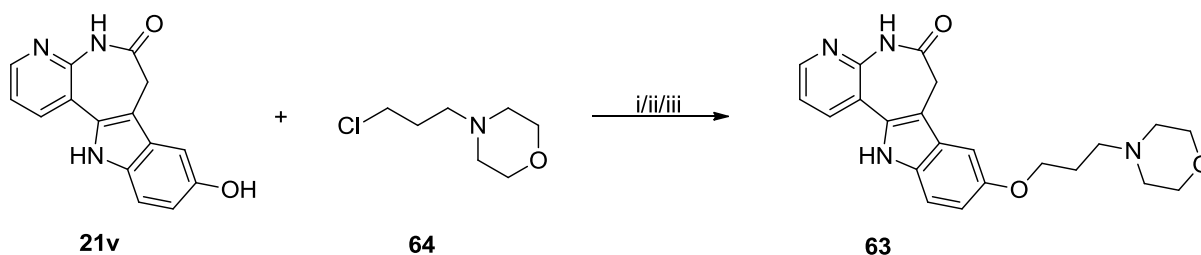
Schema 31: Synthese von 9-(3-Morpholinopropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino-[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**63**)

Reagenzien und Bedingungen: i) K_2CO_3 , DMF, 180 °C, 10 min, MW.

Da für die Synthese des 9-(3-Morpholinopropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]-azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-ons (**63**) nicht viel Ausgangsmaterial **61** zur Verfügung stand, wurden die Reaktionsbedingungen zunächst im Mikromaßstab mit 30 mg des Edukts erprobt. In einem Artikel von ADRIANI et al.¹²⁷ aus dem Jahr 2013 wurde die nukleophile Substitution eines Bromsubstituenten durch Imidazol in der Mikrowelle durchgeführt. Die beschriebenen Bedingungen wurden für die Reaktion, welche in Schema 31 dargestellt wird, übernommen. So wurden die Reagenzien **61** und **62** in DMF mit Kaliumcarbonat bei 180 °C mit einem Maximaldruck von 150 PSI und 100 W für 10 min in der Mikrowelle umgesetzt. Nach der Aufarbeitung konnte wenig Feststoff isoliert werden. Dieser reichte nur für eine HPLC-Untersuchung aus. In dem HPLC-Chromatogramm war neben dem Signal des Eduktes **21v** ein weiterer Peak zu erkennen, der dem angestrebten Produkt **63** zugeordnet wurde. Nach Wiederholung der Reaktion unter Verwendung größerer Mengen des Edukts **61** konnte erneut ein HPLC-Chromatogramm vom gewonnenen Feststoff angefertigt werden. Dieses wies ebenfalls das Signal des ersten Ansatzes auf, jedoch zeigte es auch mehrere Verunreinigungen. Um zu beweisen, dass das Produkt **63** entstanden war, wurde ein Massenspektrum des isolierten Feststoffs angefertigt. Dieses zeigte, den Molekülionenpeak des gewünschten Produkts. Eine Isolierung und die Reinigung der Verbindung **63** war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

3.4.2. Umsetzung mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholin

Wie zu Beginn des Kapitels 3.4 beschrieben, ist auch die direkte Umsetzung der Verbindung **21v** mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholin (**64**) denkbar (Schema 32). Die erste entsprechende Synthesevariante wurde nach einer von ANANDAN et al.¹²⁸ beschriebenen Methode durchgeführt. Bei dieser Methode, bei der Cäsiumcarbonat als Base und Acetonitril als Lösungsmittel eingesetzt wurde, konnte mittels massenspektrometrischer Untersuchungen des isolierten Produktes eine mehrfache Substitution nachgewiesen werden. Da sich Cäsiumcarbonat als Base für diese Umsetzung als ungeeignet erwiesen hatte, wurde für die folgenden Versuche Kaliumcarbonat verwendet. Allerdings fand in Gegenwart von Kaliumcarbonat im Lösungsmittel Aceton keine Umsetzung statt. In dem Feststoff, der aus dem Reaktionsansatz mit DMF¹²⁹ als Lösungsmittel isoliert wurde, konnte hingegen massenspektrometrisch das Produkt nachgewiesen werden. Auch aus variierten Methoden mit Zusatz von Tetrabutyl-ammoniumiodid¹³⁰ oder Kaliumiodid¹³¹ wurde das Produkt **63** aus dem gewonnenen Feststoff mittels Massenspektrometrie detektiert ohne dass dieses isoliert oder gereinigt werden konnte. Bei Zusatz von 18-Krone-6¹³² zum Reaktionsgemisch in Acetonitril konnte dagegen keine Umsetzung detektiert werden.



Schema 32: Versuche zur Synthese von 9-(3-Morpholinopropoxy)-7,12-dihydropyrido-[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**63**)

Reagenzien und Bedingungen: i) K_2CO_3 , DMF, 150 °C, 4 h; ii) K_2CO_3 , DMF, Bu_4NI , 150 °C, 4 h oder iii) K_2CO_3 , DMF, KI, 130 °C, 4 h.

Die Tabelle 7 zeigt die zuvor beschriebenen und angewandten Reaktionsbedingungen zur Übersicht. Zwar konnte anhand von Massenspektren, die von den erhaltenen Feststoffen angefertigt wurden, gezeigt werden, dass das Produkt **63** entstanden ist, jedoch gelang keine Isolierung dieser Verbindung **63**.

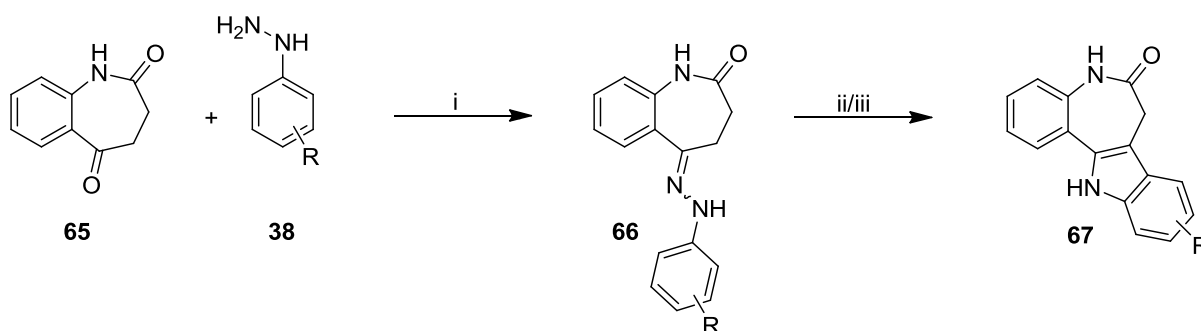
Tabelle 7: Reaktionsbedingungen bei Versuchen zur Synthese von der Zielverbindung **63** gemäß Schema 32.

Lösungs- mittel	Base (Äq.)	Zusatz	Reaktions- temperatur	Reaktions- dauer	Ergebnis
Aceton	K ₂ CO ₃ (2)	-	80 °C	4 h	E
Acetonitril	Cs ₂ CO ₃ (2)	-	80 °C	22 h	NP
DMF	K ₂ CO ₃ (1.5)	-	150 °C	4 h	P
DMF	K ₂ CO ₃ (1.5)	Bu ₄ NI	150 °C	4 h	P
DMF	K ₂ CO ₃ (1.5)	KI	130 °C	4 h	P
Acetonitril	K ₂ CO ₃ (1.5)	18-Krone-6	60 °C	7 h	E

Ergebnis (mittels massenspektrometrischer Untersuchungen): E – Edukt, P – Produkt, NP – Nebenprodukt (mehrfache Substitutionen).

3.5. Synthese neuer substituierter Paullone

Zu Vergleichszwecken wurden im Rahmen dieser Arbeit weiterhin Paullone ohne Stickstoffatom in 4-Position synthetisiert.

Schema 33: Synthese der Paullone **67**

Reagenzien und Bedingungen: i) (NaOAc), Eisessig, 70 °C; ii) H₂SO₄, Eisessig, 70 °C oder iii) Ph₂O, Δ.

Tabelle 8: Synthese der Paullone **67**.

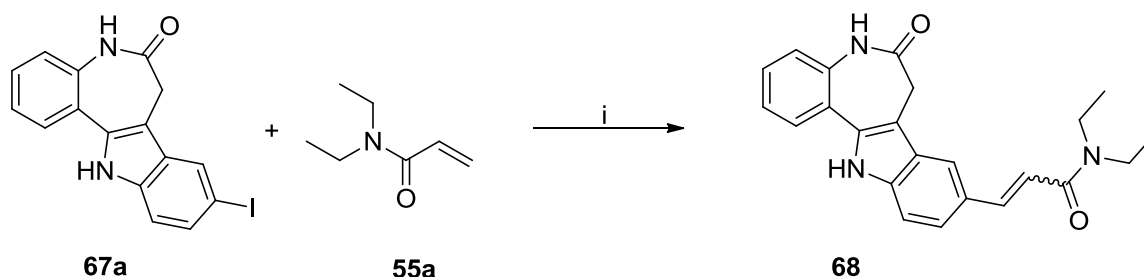
Verbindung 66 bzw. 67	Rest R	Verbindung 66 bzw. 67	Rest R
a	9-I	c	9-OCH ₃
b	11-I	d	11-OCH ₃

Das Schema 33 zeigt die Synthese der Paullone **67**, deren Substituenten in Tabelle 8 spezifiziert sind. Analog zu den 4-Azapauillononen, die in Abschnitt 3.2 beschrieben wurden, erfolgte die Darstellung dieser Verbindungen. Dazu wurde das zyklische Keton **65** mit dem jeweiligen Phenylhydrazin **38** bzw. dessen Hydrochlorid und

Natriumacetat in Eisessig bei 70 °C unter Zusatz von Schwefelsäure umgesetzt. Die Zwischenstufe, das Hydrazon **66**, wurde nur für die Umsetzung der Verbindung **65** mit dem 2-Methoxyphenylhydrazin (**38g**) isoliert. Dieses Hydrazon **66d** wurde anschließend in Diphenylether durch Erhitzen der Indolisierung unterzogen. Wie auch bei dem 4-Aza-Analogen **21g** bestand das Problem der Reinigung, weshalb Verbindung **67d** nur mit einer Reinheit von 86.2% (HPLC) erhalten werden konnte.

Die dargestellten Paullone **67a-c** dienen im Folgenden auch als Ausgangsstoffe für weitere Reaktionsschritte. Wie auch die 4-Aza-Analoga fungieren die Paullone mit einem Iod-Substituenten als Ausgangsstoffe für die Synthese von Paullon-Zimtsäureamid-Hybriden (**68**) und Paullon-Chalkon-Hybriden (**69**).

Das Schema 34 zeigt die Umsetzung des Edukts **67a** mit dem *N,N*-Diethylacrylamid (**55a**) in DMF unter Verwendung des Katalysators Palladium(II)-acetat und der Base Triethylamin. Bei dieser Synthese gelang jedoch keine Isolierung des trans-Alkens. Hierbei konnte lediglich ein (*E/Z*)-Isomerengemisch erhalten werden. Dies bestätigte das ¹H-NMR-Spektrum, da dort sowohl eine Kopplungskonstante mit 15 Hz als auch mit 12 Hz gefunden werden konnte. Die Kopplungskonstante mit einer Größe von 15 Hz spricht für das Vorhandensein einer (*E*)-konfigurierten Doppelbindung und die kleinere Kopplungskonstante mit 12 Hz für die (*Z*)-Konfiguration. In dem HPLC-Chromatogramm des Isomerengemisches konnten zwei nahezu gleich große Peaks identifiziert werden, während eine Trennung dieser beiden Isomere im Dünnschichtchromatogramm nicht zu erkennen war.

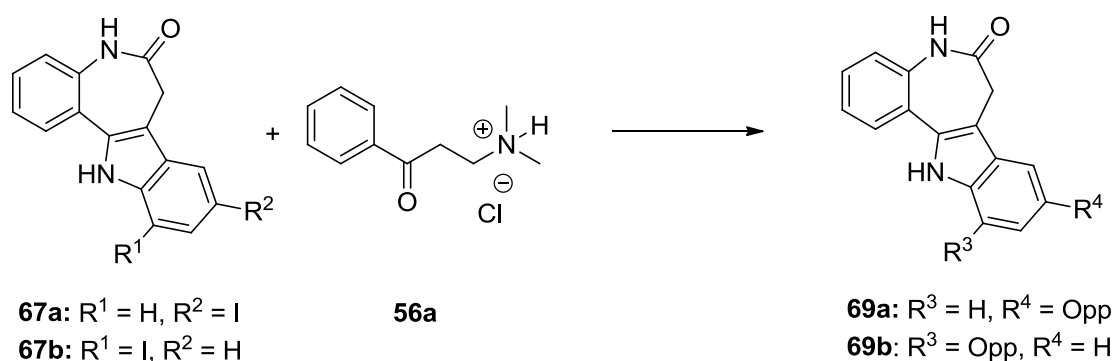


Schema 34: Versuch zur Synthese des (*E*)-*N,N*-Diethyl-3-(6-oxo-5,6,7,12-tetrahydrobenzo-[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-yl)acrylamids (**68**)

Reagenzien und Bedingungen: i) Pd(OAc)₂, Et₃N, DMF, 150 °C, 1 h.

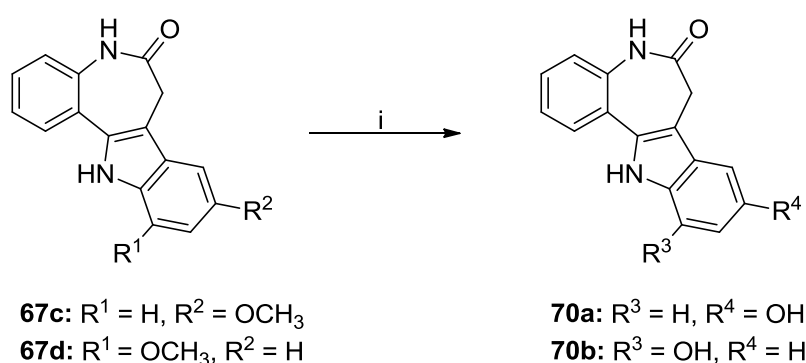
Für die Synthese der Paullon-Chalkon-Hybride (**69**) erfolgte die Umsetzung wie in Abschnitt 3.3 beschrieben mittels Keton-Mannichbase **56a**. Die Verbindung **69a**

konnte zwar synthetisiert werden, jedoch gelang keine ausreichende Reinigung. Die Verbindung **69b** konnte hingegen nach einer Säulenchromatographie rein erhalten werden. In den ^1H -NMR-Spektren waren für die olefinischen Protonen Kopplungskonstanten von 15 Hz zu sehen, dies deutet auf die (*E*)-Konfiguration hin.



Schema 35: Umsetzung des Iod-Pauillons **67a** bzw. **67b** mit der Keton-Mannichbase **56a**
Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, Et_3N , DMF, 140°C , 1 h; Opp = 3-Oxo-3-phenylprop-1-enyl.

Ebenfalls wurden die Demethylierungen der Verbindungen **67c** und **67d** durchgeführt. Bei den Umsetzungen mit Bortribromid in Methylenchlorid bei Raumtemperatur konnten die Verbindungen **70** erhalten werden. Dabei gelang es lediglich, die Verbindung **70a** rein darzustellen.

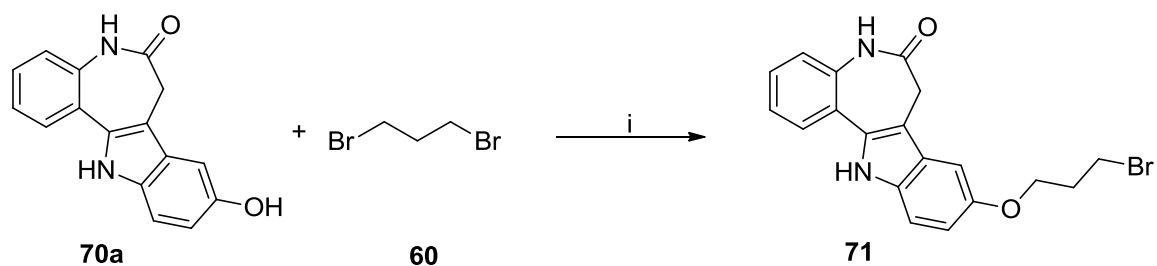


Schema 36: Synthese von Hydroxy-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-onen (**70a** und **70b**)

Reagenzien und Bedingungen: a) BBr_3 , DCM, RT, 2 h.

Des Weiteren wurde die Verbindung **70a** mit 1,3-Dibrompropan (**60**) in einer Williamson-Ethersynthese umgesetzt. Das Produkt **71** konnte mit einer Reinheit

(HPLC) von 78.9% erhalten werden. Eine weitere Umsetzung mit Morpholin war im Rahmen dieses Projektes nicht mehr möglich.



Schema 37: Synthese von 9-(3-Brompropoxy)-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**71**)

Reagenzien und Bedingungen: i) K_2CO_3 , Aceton, Δ , 5 d.

4. Biologische Evaluierung

Im Rahmen des Projektes wurden mit den Substanzen Zytotoxizitätstests an Mausmakrophagen und Untersuchungen an den Parasiten *T. cruzi*, *T. b. brucei* und *L. major* durchgeführt. Zusätzlich wurden die Verbindungen an drei verschiedenen TryS (*T. brucei*, *T. cruzi*, *L. infantum*) auf ihre inhibitorische Aktivität getestet. Die TryS stellt hierbei ein potenzielles Target dar.

Die Zytotoxizitätsmessung an Mausmakrophagen und der MTT-Assay an den Epimastigoten der *T. cruzi* wurden von Frau M. Abad Dar und Frau H. Erdmann aus der Arbeitsgruppe von Herrn C. Hölscher am Forschungszentrum Borstel vorgenommen. Die Untersuchungen an *T. b. brucei* und zur TryS wurden von Herrn D. Benítez und Herrn D. Charquero aus dem Arbeitskreis von Herrn M. A. Comini am Insitut Pasteur de Montevideo in Uruguay durchgeführt.

4.1. Zytotoxizitätsmessung

Die Zytotoxizitätsmessungen an Mausmakrophagen wurden mit dem xCELLigence™-System durchgeführt. Das Messprinzip beruht auf einer mikroelektronischen Zell-Impedanzmessung (RTCA – Real-Time Cell Analyzer). Mikroelektronische Biosensoren befinden sich in den 96-*well* E-*plates*. Die Sensoren messen die elektrische Impedanz der Zellpopulation in der Kavität. Haben die Zellen Kontakt zum Sensor, ändert sich die elektrische Impedanz zwischen den Mikroelektroden. Diese Messung ermöglicht eine quantitative Information über den Zellzustand, die Zellanzahl, die Viabilität und die Morphologie. Die Zellen werden wie bei jedem anderen zellbasierten Assay ausgesät und im Gerät vermessen. Je mehr Zellen sich am Boden und damit am Sensor anheften, desto größer ist die Impedanz. Angegeben wird allerdings nicht die Impedanz, sondern die dimensionslose Einheit des Zellindex.¹³³

Die getesteten Substanzen **21a-f**, **21h**, **21j-m**, **21o-t**, **21f**, **22a-c**, **23a-d**, **24a-c** und **25a-c** wiesen keine signifikante Toxizität an den Maus-makrophagen in einem Konzentrationsbereich von 5 - 60 μM auf.

4.2. Proliferationsassays an trypanosomalen Parasiten

4.2.1. MTT-Assay an *T. cruzi*-Epimastigoten

Der MTT-Assay dient zur Messung der Vitalität und der Proliferation der *T. cruzi*-Epimastigoten. Er basiert auf der Reduktion des MTTs (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid). Dieser gelbe Farbstoff dringt in die Epimastigoten ein und der Tetrazoliumring wird beispielsweise durch aktive Mitochondrien reduktiv aufgespalten. Das dabei entstehende Formazan ist ein blauer, wasserunlöslicher Feststoff. Dieser wird durch Zusatz von SDS-Lösung mit 0.01 M HCl in Lösung gebracht und anschließend wird die Intensität photometrisch bestimmt. Dieser Assay ist wenig zeitaufwendig, da es keine Waschschrte gibt und eignet sich somit zur Automatisierung, was einen hohen Durchsatz ermöglicht.^{134, 135}

Die Durchführung des Assays erfolgte nach einer Methode von MUELAS-SERRANO et al..¹³⁶

Die im Rahmen dieses Projektes getesteten Verbindungen zeigten keine signifikante Inhibition an den *T. cruzi*-Epimastigoten im verwendeten Konzentrationsbereich von 5 – 60 μM .

4.2.2. Durchflussszytometrieassay an *T. b. brucei*-Parasiten

Die Durchflussszytometrie ist eine vielseitige Methode zur Erfassung von Einzelzellen. Dabei macht sie sich sowohl physikalische als auch chemische Charakteristika von Zellen in Suspensionen zunutze. Bei diesem Verfahren wird die Zellsuspension über ein Schlauchsystem durch einen Messkopf gepresst. Dabei werden die Zellen im laminaren Flüssigkeitsstrom so geführt, dass jeweils nur eine Zelle die Öffnung passieren kann. Mittels eines Laserstrahls werden die vorbeifließenden Zellen fokussiert. Der kleinwinkelig oder auch großwinkelig abgelenkte Laserstrahl (FSC: forward scatter, Vorwärtsstreulicht; SSC: side scatter, Seitwärtsstreulicht) wird detektiert. Die gemessenen Daten lassen Rückschlüsse auf die Größe, das Volumen

und die Struktur von Zellen zu. Zusätzlich werden durch die Bestrahlung Fluoreszenzerscheinungen induziert. Diese werden in diesem Fall durch die Zugabe des Propidiumiodids erzielt. Bei dem Propidiumiodid handelt es sich um eine stark basische Verbindung, die gut in den sauren Zellkern eindringen kann. Der Farbstoff lagert sich in die helikale Struktur der DNA ein und kann anschließend durch den Laserstrahl des Cytometers angeregt werden. Die erhaltenen Daten werden mit Hilfe eines Computerprogramms ausgewertet.¹³⁴

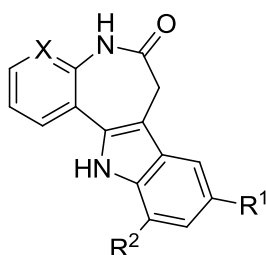


Abbildung 22: Strukturübersicht zur Tabelle 9.

Tabelle 9: antitrypanosomale Wirkung ausgewählter Verbindungen auf infektiöse *T. b. brucei*-Parasiten.

Verbin- dung	X	R ¹	R ²	Parasiten- wachstum in % bei 5 μ M ^a	EC ₅₀ (μ M) ^a
22b	N		H	1.2 \pm 0.1	2.5 ^b
24b	N	H		7.8 \pm 1.5	0.12 \pm 0.04
24c	N	H		7.3 \pm 0.9	0.45 \pm 0.12
25a	N	H		3.9 \pm 0.3	0.18 \pm 0.02
69b	C	H		2.5 \pm 0.2	0.14 \pm 0.07

a) Mittelwerte \pm SEM durch Doppel- oder Dreifachbestimmung; SEM – Standardabweichung der Mittelwerte; b) Wert aus Einzelbestimmung.

Von den 32 getesteten Substanzen zeigten 5 Verbindungen einen Effekt auf das Parasitenwachstum. Zusätzlich wurden für diese Verbindungen EC_{50} -Werte ermittelt, die in Tabelle 9 dargestellt werden. Die mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) bezeichnet die effektive Konzentration, bei der ein halbmaximaler Effekt beobachtet wird.

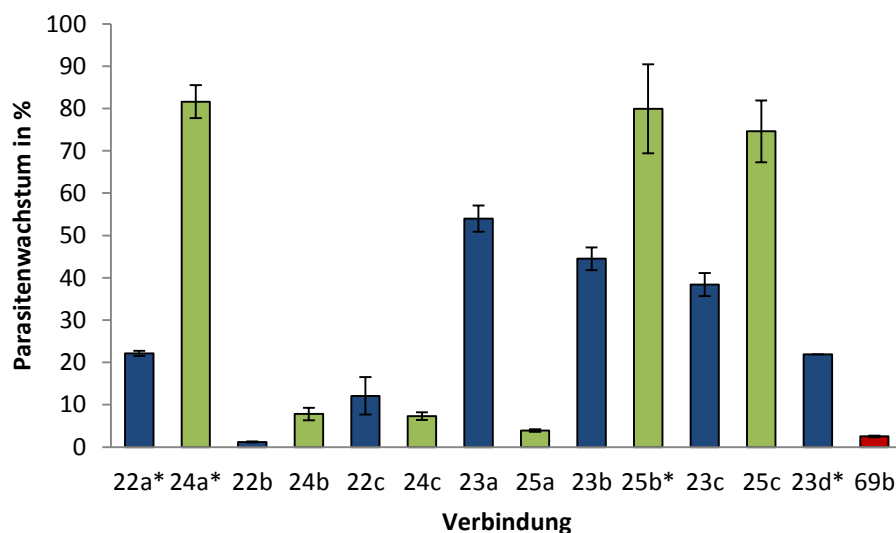


Abbildung 23: *T. b. brucei*-Parasitenwachstum in % nach Inkubation von 24 h mit Paullon-Chalkon-Hybriden bzw. mit Paullon-Zimtsäureamid-Hybriden.

Erklärung: blau – in 9-Position substituierte Substanzen, grün – in 11-Position substituierte Verbindungen, rot – in 11-Position substituiertes Paullon-Chalkon-Hybrid, * eingesetzte Konzentration 30 µM, ansonsten 5 µM.

Die Verbindungen **21a-v** zeigten keine nennenswerte Inhibition des Parasitenwachstums. Bei den aktivsten Verbindungen, die das Parasitenwachstum beeinträchtigen, handelt es sich um 4-Azapauillone mit α,β -ungesättigter Carbonylstruktur in einer Seitenkette. Bei den 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybriden zeigten die Substanzen **22b** und **24b**, die einen *N*-Phenylsubstituenten tragen, und die Verbindung **24c**, die einen *N*-Benzylrest trägt, einen signifikanten Einfluss auf das Wachstum der Trypanosomen. Werden die Werte für die Verbindungen **22b** und **24b** verglichen, fällt auf, dass die Verbindung **24b**, die den Substituenten in der 11-Position trägt, einen kleineren EC_{50} -Wert aufweist als die entsprechende in 9-Position substituierte Verbindung **22b**. Nach Austausch des *N*-Phenyl- gegen einen *N*-Benzylsubstituenten zeigte die entsprechende in 9-Position substituierte Verbindung **22c** bei einer Konzentration von 5 µM eine Verminderung des Parasitenwachstums um 87.9%. Das in Position 11 substituierte Isomer **24c** übt

sogar eine noch stärkere Wirkung auf die Parasiten aus. Die 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybride **22a** und **24a**, die am Amidstickstoff zwei Ethylgruppen tragen, weisen dagegen keine signifikante Wirkung auf das Wachstum der Trypanosomen auf (s. Abbildung 23).

Bei den 4-Azapauillon-Chalkon-Hybriden weist lediglich Verbindung **25a** mit einem EC_{50} -Wert von 0.18 μ M einen starken Effekt auf. Die entsprechende in 9-Position substituierte Verbindung **23a** vermindert das Parasitenwachstum um 46.0% und ist damit deutlich schwächer aktiv. Die 4-carbanaloge Verbindung zur Substanz **25a** ist Verbindung **69b**. Diese ist potenter als **25a**, was jedoch auf die generelle kinaseinhibitorische Wirkung der Paullone zurückzuführen sein könnte.

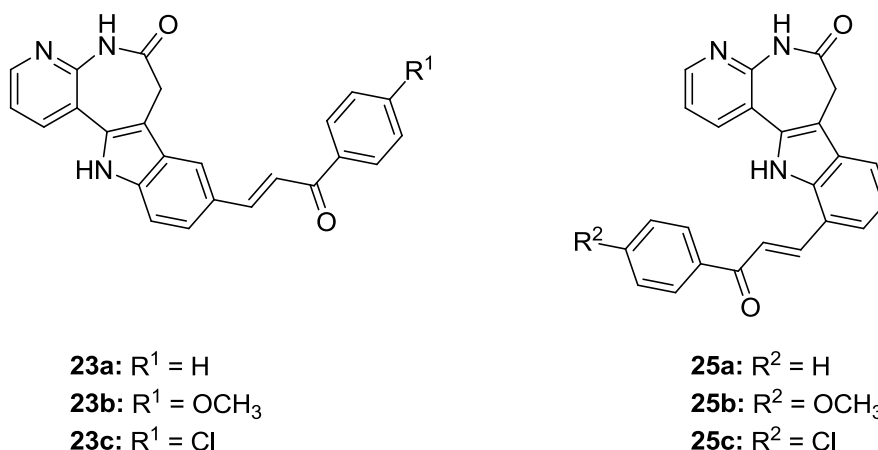


Abbildung 24: Übersicht der Verbindungen **23** und **25**.

Die 4-Azapauillon-Chalkon-Hybride **23b,c** und **25b,c**, die entweder einen elektronenschiebenden (Methoxy-) oder einen elektronenziehenden (Chlor-) Substituenten am Aromaten der Chalkon-Teilstruktur tragen, weisen schwächere Effekte als die unsubstituierten Derivate auf. Bei den in 11-Position substituierten Derivaten **25b** bzw. **25c** wird das Parasitenwachstum lediglich um 20.1% bzw. 24.4% vermindert (siehe Abbildung 23). Offensichtlich führt ein Substituent an dieser Stelle des Aromaten zu einem sterisch anspruchsvollen Molekül, welches weniger gut in die Bindetasche eines hypothetischen Target-Proteins passt. Im Gegensatz dazu führt bei den 9-substituierten 4-Azapauillon-Chalkon-Hybriden **23** die Substitution des Phenylrings in *para*-Position zu einer Verstärkung der antitrypanosomalen Aktivität. Das unsubstituierte Derivat **23a** vermindert, wie oben bereits erwähnt, das Parasitenwachstum um 46.0%. Die Verbindung **23b**, die zusätzlich einen

Methoxysubstituenten innehat, führt zu einer Verminderung des Parasitenwachstums um 55.5%. Das Derivat **23c**, welches einen Chlorsubstituenten aufweist (siehe Abbildung 24), reduziert das Parasitenwachstum um 61.6% (s. Abbildung 23). Diese drei Verbindungen wurden bei Konzentrationen von 5 μM vermessen. In diesem Fall scheint ein zusätzlicher Substituent am Aromaten des Chalkones nicht der sterisch limitierende Faktor zu sein, sondern führt sogar zu einer stärkeren Reduktion des Parasitenwachstums.

Die Verbindung **23d** trägt statt eines Phenylrestes einen Furanylring. Dieses Derivat vermindert das Parasitenwachstum um 87.1%, allerdings bei einer Konzentration von 30 μM . Somit wirkt sich vermutlich ein kleineres Ringsystem mit einem Heteroatom, welches als Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor fungieren kann, ungünstig auf die Adressierung eines entsprechenden Targets aus und demzufolge auch auf eine Verminderung des Parasitenwachstums.

4.3. Enzymaktivitätsmessungen an *TbTryS*, *TcTryS* und *LtTryS*

Bei dem Malachitgrün-Assay handelt es sich um eine einfache Bestimmung des anorganischen Phosphats. Unter sauren Bedingungen reagieren Malachitgrün und Molybdat mit freiem Orthophosphat, welches beispielsweise aus ATP freigesetzt wird, zu einem Komplex, der bei einer Wellenlänge zwischen 620 und 650 nm vermessen werden kann. Bei diesem Test wird ausschließlich das anorganische Phosphat erfasst, das aus Organophosphaten freigesetzt wurde. Daraus lässt sich wiederum auf die Enzymaktivität schließen.¹³⁷⁻¹⁴⁰

Die im Rahmen dieses Projektes getesteten Verbindungen zeigten keine signifikante Aktivitätsminderung der *TbTryS* bzw. der *LtTryS* bei einer Konzentration von 30 μM .

Wie im vorherigen Abschnitt gezeigt werden konnte, sind einige Substanzen in der Lage das Parasitenwachstum zu hemmen. Durch die Enzymaktivitätsmessungen an den verschiedenen TryS wurde gezeigt, dass es sich bei einem adressierten Target nicht um die TryS handelt.

Die Ergebnisse zu den Proliferationsmessungen an *L. major*-Parasiten und der Enzymaktivitätsmessungen an *TcTryS* waren zum Zeitpunkt der Niederlegung der Arbeit noch nicht verfügbar.

5. Zusammenfassung

Bestimmte Paullone hemmen die Trypanothionsynthetase, ein für Krankheitserreger aus den Familien der Trypanosomen und Leishmanien essentielles Enzym. Allerdings sind Paullone auch Inhibitoren humaner Kinasen, was Ursache für unerwünschte toxische Wirkungen sein könnte. Seit dem Jahr 2004 ist bekannt, dass das Grundgerüst der 4-Azapaulone im Gegensatz zu den 4-carbanalogen Verbindungen keine inhibitorische Aktivität gegenüber den CDK1-, CDK5- und den GSK-3-Proteinkinasen aufweist.⁷⁶ Das Ziel dieser Arbeit bestand daher in der Synthese neuer 4-Azapaulone als potenziell antitrypanosomale Wirkstoffe unter Verbesserung des Toxizitätsprofils.

Die Synthese der 4-Azapaulone ist ein mehrstufiger Prozess. Hinsichtlich der Synthese des 6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dions (**30**), welches als Vorstufe der 4-Azapaulone dient, gelang eine Optimierung der Synthesesequenz mit einer Verdopplung der literaturbekannten⁸² Ausbeute.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang die Synthese neuer, verschieden substituierter 4-Azapaulone **21**. Die 4-Azapaulonderivate **21** weisen jedoch keine signifikanten antitrypanosomalen Aktivitäten auf.

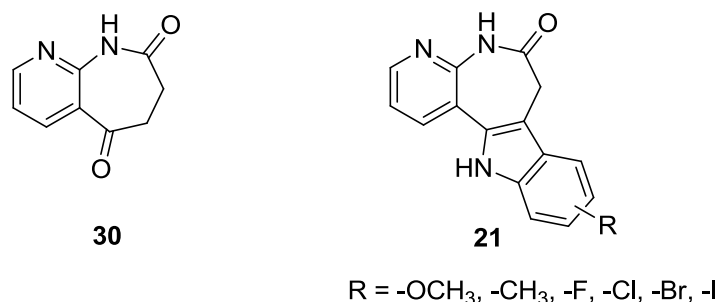


Abbildung 25: Edukt **30** und 4-Azapaulone **21**.

Des Weiteren zeigen Paullon-Chalkon-Hybride gute antileishmanielle⁷⁵ und antitrypanosomale⁷⁴ Effekte. Die Kombination der Strukturmerkmale der 4-Azapaulone und der Paullon-Chalkon-Hybride stellte einen Schwerpunkt dieser Arbeit dar. Die 4-Azapaulon-Chalkon-Hybride **23a-d** und **25a-c** wurden synthetisiert

und biologisch evaluiert. Die Verbindung **25a** stellt dabei die potenteste Verbindung mit einem EC_{50} -Wert von 180 nM an *T. b. brucei*-Parasiten dar und wirkt nicht zytotoxisch auf primäre Mausemakrophagen.

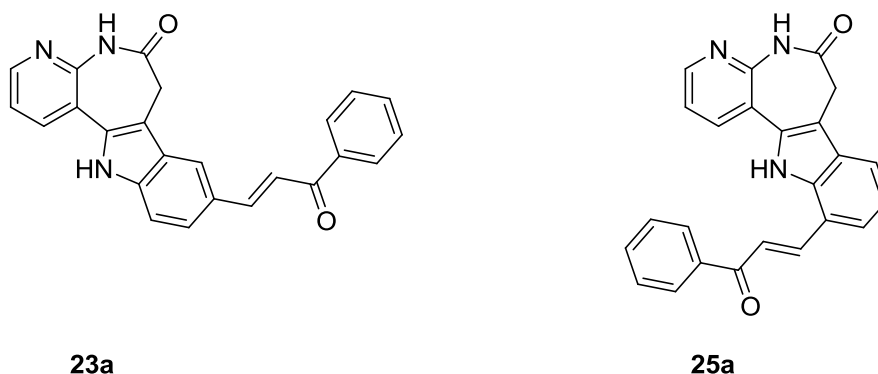


Abbildung 26: 4-Azapauillon-Chalkon-Hybride **23a** und **25a**.

Unter Beibehaltung der α,β -ungesättigten Carbonylfunktion in der Seitenkette wurden auch analoge 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybride **22a-c** und **24a-c** hergestellt und ebenfalls auf ihre antitrypanosomalen Aktivitäten untersucht. Bei dieser Substanzklasse weist wieder eine in 11-Position substituierte Verbindung die beste Wachstumsinhibition an *T. b. brucei*-Parasiten auf. Mit einem EC_{50} -Wert von 120 nM ist das Derivat **24b** die aktivste Substanz, die im Rahmen dieser Arbeit entstand. Diese weist gleichfalls keine Zytotoxizität an Mausemakrophagen auf.

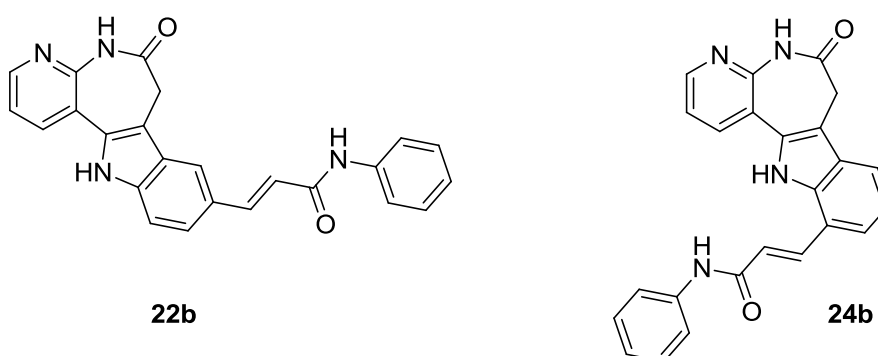


Abbildung 27: 4-Azapauillon-Zimtsäureamid-Hybride **22a** und **24b**.

Die Inhibition des potenziellen Targets, der Trypanothionsynthetase (TryS), konnte anhand von Enzymaktivitätsmessungen mit den synthetisierten Verbindungen nicht bestätigt werden. Die Substanzen weisen keine signifikante Verminderung der TryS-Aktivität auf. Bisher konnte kein adressiertes Target identifiziert werden, welches zur

Wachstumsinhibition der *T. b. brucei*-Parasiten durch die entsprechenden Verbindungen **22b**, **24b**, **24c**, **25a** und **69b** führt.

6. Summary

Certain paullones inhibit the trypanothione synthetase, which is an essential enzyme of protozoan parasites of the genus *Trypanosoma* and *Leishmania*. However, paullones also inhibit human protein kinases. This biological activity may cause undesirable toxic side effects. In 2004 it was reported that 4-azapaullones do not inhibit CDK1, CDK5 and GSK-3 protein kinases in contrast to the 4-carbanaloga.⁷⁶ The aim of the study reported here was the synthesis of novel 4-azapaullones as potential antitrypanosomal drugs with an improvement of the toxic profile.

The synthesis of 4-azapaullones is a multistep process. Regarding the synthesis of the building block 6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepine-5,8-dione (**30**), a yield increase could be achieved by modification of the reaction conditions.

Novel substituted 4-azapaullones **21** were synthesized in this work. The 4-azapaullon derivatives **21** exhibited no significant antitrypanosomal activity.

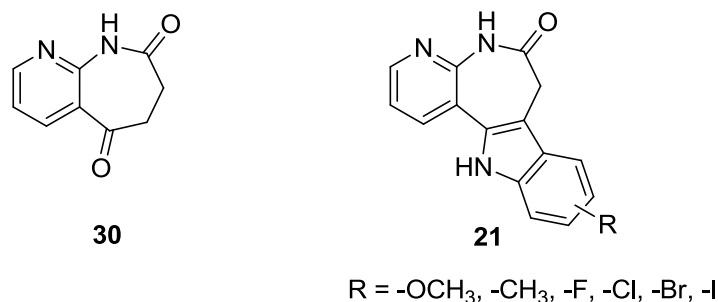


Figure 1: reagent **30** and 4-azapaullones **21**.

Furthermore paullone-chalcone-hybrides have been described as antileishmanial⁷⁵ and antitrypanosomal⁷⁴ agents. The combination of the structural features of the 4-azapaullones and the paullone-chalcone-hybrides represented a focus of this work. The 4-azapaullone-chalcone-hybrides **23a-d** and **25a-c** were synthesized and evaluated biologically. Compound **25a** is one of the most potent substances with an EC₅₀ value of 180 nM on *T. b. brucei* parasites showing no cytotoxic effects on primary mouse macrophages.

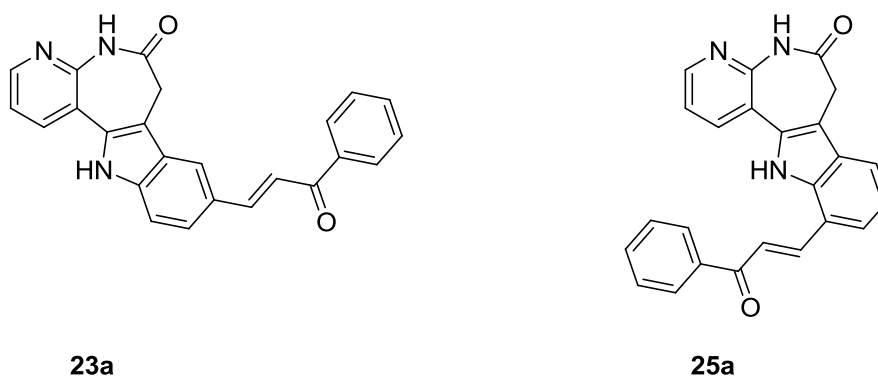


Figure 2: 4-azapauullone-chalcone-hybrids **23a** and **25a**.

By retaining the α,β -unsaturated carbonyl function within the sidechain, 4-azapauullone-cinnamamide-hybrids **22a-c** and **24a-c** were synthesized and evaluated biologically, as well. Among this class of substances a derivative which is likewise substituted in 11-position shows considerable growth inhibition of *T. b. brucei* parasites. With an EC_{50} value of 120 nM derivative **24b** is the most potent substance synthesized in this work, exhibiting no cytotoxicity towards murine macrophages.

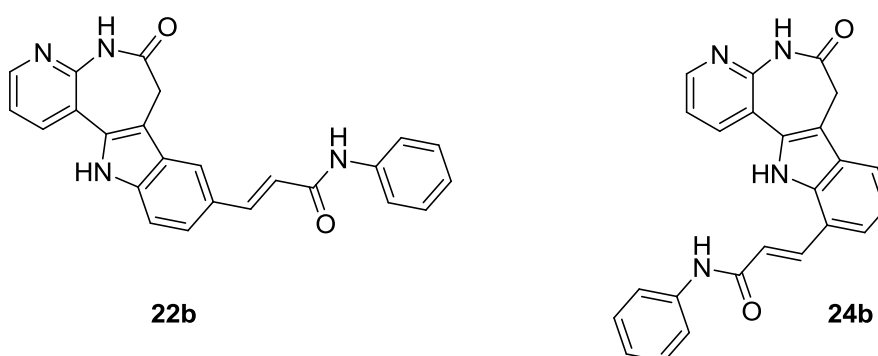


Figure 3: 4-azapauullone-cinnamamide-hybrids **22b** and **24b**.

The inhibition of the potential target, the trypanothione synthetase (TryS), could not be confirmed by enzyme activity measurements with the synthesized compounds. The substances exhibit no significant reduction of the TryS activity. Until now no target has been identified, which could explain the *T. b. brucei* growth inhibition of the compounds **22b**, **24b**, **24c**, **25a** and **69b**.

7. Experimenteller Teil

7.1. Allgemeine Angaben

Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Fertigfolien der Fa. Macherey-Nagel aus Düren (Polygram Sil G/UV₂₅₄, 40 x 80 mm, Schichtdicke 0.2 mm) genutzt. Die Detektion erfolgte durch Bestrahlung mit UV-Licht (254 nm, 366 nm).

Die Elementaranalysen wurden mit dem CE Instruments FlashEA 1112 Elemental Analyzer der Fa. Thermo Quest aus San Jose, CA, USA angefertigt. Die Angabe der berechneten (ber.) und gefundenen (gef.) Werte erfolgt in Prozent.

Die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) wurde mit der LaChrom Elite (Pump L-2130, Autosampler L-2200, Column Oven L-2300, Diode Array Detector L-2450, OrganizerBox L-2000, Trennsäule LiChroCART 125-4, LiChropher 100 RP-18 (5 µm)) der Fa. Merck/Hitachi, Darmstadt, durchgeführt. Zur Probenvorbereitung wurde 1 mg der Probe in 500 µL DMSO gelöst. 200 µL der Lösung wurden mit 500 µL DMSO verdünnt und anschließend filtriert (Acrodisc MHP 13 µm oder Millex-LCR). Als Elutionsmittel dienten Gemische aus Acetonitril und Wasser oder (Et₃NH)₂SO₄-Puffer (pH 2.6) im jeweils angegebenen Verhältnis. Die Pufferlösung wurde hergestellt, indem 20 mL Triethylamin und 2.42 g Natriumhydroxid mit bidestilliertem Wasser auf 1.00 L aufgefüllt wurden. Anschließend wurde mit konz. Schwefelsäure ein pH-Wert von 2.6 eingestellt. Das Absorptionsmaximum des Hauptpeaks sollte im Bereich von 300-800 mAU liegen. Gegebenenfalls wurde eine Anpassung der Probenkonzentration vorgenommen. Das Injektionsvolumen betrug 10 µL bei einer Flussrate von 1.000 mL/min. Die Gesamtlaufzeit betrug 15 min und die angestrebte Nettoretentionszeit sollte $t_N = 3-8$ min sein. Die Detektion erfolgte bei 254 nm und 280 nm. Die Auswertung erfolgte durch Integration der Peakflächen und unter Verwendung der 100%-Methode, wobei ein Integrationsausschluss bis 1.55 min erfolgte. Die Bestimmung der Nettoretentionszeit (t_N) und der Totzeit (t_M) erfolgte bezogen auf den DMSO-Peak. Die Absorptionsmaxima (λ_{max}) wurden den UV-Spektren des DADs entnommen.

Die Messung der IR-Spektren erfolgte an einem FT-Spektrometer FT-IR 200 der Fa. Nicolet Thermo, Madison, WI, USA. Die festen Substanzen wurden als Kaliumbromid-Presslinge vermessen.

Die NMR-Spektren wurden an den Geräten Avance DRX-400 (400 MHz) und Avance II-600 (600 MHz) der Fa. Bruker aufgenommen. Als interner Standard diente Tetramethylsilan (TMS). Die Signale sind in ppm der δ -Skala und die Kopplungskonstanten in Hz angegeben. Die Temperatur betrug bei allen Messungen 22 °C. Als deuterierte Lösungsmittel wurden CDCl_3 und $\text{DMSO-}d_6$ eingesetzt. Zur Beschreibung der Multiplizitäten der Signale wurden nachfolgende Symbole verwendet: *s* (Singulett), *d* (Dublett), *t* (Triplett), *q* (Quartett), *m* (Multiplett), *dd* (doppeltes Dublett), *ddd* (doppeltes doppeltes Dublett), *td* (dreifaches Dublett).

Die Massenspektren wurden an einem Massenspektrometer MAT 95 der Fa. Finnigan, Bremen, (Elektronenstoßionisation, 70 eV) aufgenommen. Die Signalintensitäten sind in Prozent in Relation zum Basispeak angegeben. Für die hochaufgelösten Massenspektren (HRMS) wurde Perfluorkerosin als interner Standard verwendet. Es werden berechnete (ber.) und gefundene (gef.) Werte angegeben.

Mikrowellen-Synthesen wurden an einem fokussierten Mikrowellen-Synthesesystem, Typ Discover der Fa. CEM GmbH, Kamp-Lintfort, durchgeführt. Es wurden 10 mL-Reaktionsgefäße mit Teflonseptum (geschlossenes System) genutzt.

Parallelsynthesen wurden in einer Carousel 12 Place Reaction Station der Fa. Radley Discovery Technologies, Shire Hill, Saffron Walden, Essex, Großbritannien, durchgeführt.

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Glaskapillaren mit einem Schmelzpunktmessgerät Electrothermal IA 9100 der Fa. Barnstedt International, Southend-on-Sea, Essex, Großbritannien, bestimmt und sind nicht korrigiert.

Die verwendeten Ausgangsstoffe und Reagenzien wurden über Acros Organics, Geel, Belgien, oder Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA, bezogen. Die Keton-Mannichbasen waren bereits synthetisiert und standen zur Verfügung.

Die verwendeten Lösungsmittel wurden nach Standardverfahren getrocknet und gereinigt. Bei den Lösungsmitteln handelt es sich um:

Dichlormethan und Tetrahydrofuran¹⁴¹

Über Kaliumhydroxid (15.0 g) vorgetrocknetes Lösungsmittel (1.00 L) wurde mit Calciumhydrid (2.00 g) versehen und für 5 h unter Feuchtigkeitsausschluss zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel von dem Calciumhydridrückstand destillativ getrennt.

Toluol¹⁴¹

Zu dem durch azeotrope Destillation vorgetrockneten Toluol (1.00 L) wurde Calciumhydrid (2.00 g) zugegeben und für 5 h unter Feuchtigkeitsausschluss zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel von dem Calciumhydridrückstand destillativ getrennt.

Bereitung von gasförmigem Chlorwasserstoff

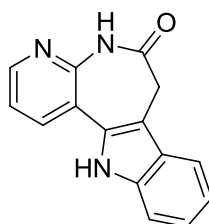
Natriumchlorid wurde in einem Zweihalskolben, bestückt mit einem mit konz. Schwefelsäure befüllten Tropftrichter und einer Kernolive, vorgelegt. Durch Zutropfen der Schwefelsäure zum Natriumchlorid entsteht Chlorwasserstoffgas. Dieses wird über die Kernolive mit einem Schlauch in die Reaktionslösung eingeleitet. Die Regulation des Chlorwasserstoffstromes erfolgt über die Tropfgeschwindigkeit der Schwefelsäure (Durchführung erfolgte in Anlehnung an das Organikum¹⁴²).

Kohlefritte

Durch Einreiben von Aktivkohle in eine Fritte (D4) wird der Porendurchmesser verkleinert. Diese wurde zur Filtration von Palladiumkatalysator-haltigen Reaktionsgemischen verwendet.

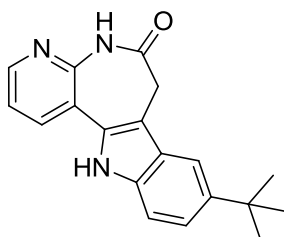
7.2. Synthesen

7,12-Dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21a)



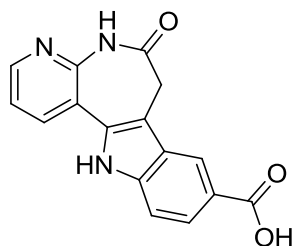
6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), Phenylhydrazin-Hydrochlorid (**38a**, 180 mg, 1.25 mmol) und Natriumacetat (103 mg, 1.25 mmol) wurden in Eisessig (10 mL) suspendiert und auf 70 °C erwärmt. Nach 4 h wurde konz. Schwefelsäure (0.2 mL) zugegeben und weiter bei 70 °C gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und bis zur vollständigen Umsetzung (4 h) wurde halbstündlich konz. Schwefelsäure (je 0.2 mL) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde nach dem Abkühlen auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Anschließend erfolgte die Umkristallisation aus Ethanol. Das Produkt (158 mg, 55.9%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Zers.: ab 287 °C; IR (KBr): 3264 (NH), 1649 (C=O) cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.71 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 8.43 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.16 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.70 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz), 7.48 – 7.43 (*m*, 1H), 7.35 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.20 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.1 Hz), 7.10 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.0 Hz), 3.63 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 147.4, 137.7, 130.2, 126.4, 117.7, 107.7 (quart. C); 147.4, 135.3, 122.5, 119.2, 119.2, 118.1, 111.5 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₁₅H₁₁N₃O (249.27); MS (EI): *m/z* = 249 ([M]⁺, 100), 220 ([M-CHO]⁺, 95); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 249.08966, gef. 249.08947; HPLC: 99.5% bei 254 nm, 99.5% bei 280 nm, *t*_N = 4.9 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 30:70), λ_{max} = 234, 309 nm.

9-*tert*-Butyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21b)

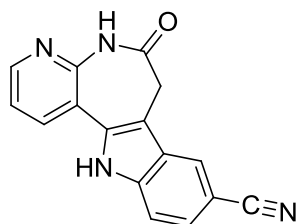
6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 4-*tert*-Butylphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38b**, 273 mg, 1.36 mmol) und Natriumacetat (111 mg, 1.36 mmol) wurden in Eisessig (10 mL) vorgelegt und auf 70 °C erhitzt. Nach 1 h wurde konz. Schwefelsäure (0.2 mL) zugegeben und weiter bei 70 °C gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 2 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (213 mg, 61.6%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Zers.: ab 309°C; IR (KBr): 3174 (NH), 1658 (C=O), 1364, 748 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.55 (s, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.41 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.14 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.63 (*d*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 1.7 Hz), 7.38 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.6 Hz), 7.33 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.6 Hz), 7.30 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 3.63 (s, 2H), 1.37 (s, 9H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.5, 147.3, 141.8, 136.1, 130.3, 126.2, 118.0, 107.3, 34.4 (quart. C); 147.4, 135.3, 120.9, 119.3, 113.7, 111.1 (tert. C); 31.8 (sek. C); 31.7 (3C, prim C); C₁₉H₁₉N₃O (305.37); ber. C 74.73, H 6.27, N 13.76; gef. C 74.36, H 6.19, N 13.53; MS (EI): *m/z* = 305 ([M]⁺, 63), 290 ([M-CH₃]⁺, 100); HPLC: 99.6% bei 254 nm, 98.9% bei 280 nm, *t*_N = 4.6 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 233, 311 nm.

6-Oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-carbonsäure (**21c**)

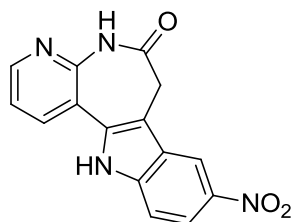
4-[2-(8-Oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5-yliden)hydrazinyl]benzoesäure (**39c**, 130 mg, 0.420 mmol) wurde in Diphenylether (30 mL) für 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (80 mL) dazugegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit reichlich *n*-Hexan (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als beiger Feststoff (72.0 mg, 58.5%) erhalten.

Zers.: ab 291 °C; IR (KBr): 3432 (NH), 3271 (COOH), 2913 (CH aliphat.), 1676 (C=O), 1356 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.15 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 8.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.34 (*d*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 0.9 Hz), 8.21 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.83 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.50 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.7 Hz), 7.36 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 3.66 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.2, 168.5, 147.8, 139.9, 131.7, 125.9, 117.4, 108.7 (2C) (quart. C); 147.6, 135.6, 123.8, 120.5, 119.3, 111.1 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₁₆H₁₁N₃O₃ (293.28); MS (EI): *m/z* = 293 ([M]⁺, 100), 264 ([M-CHO]⁺, 77); HRMS (EI): *m/z* ([M-H]⁺) ber. 292.07167, gef. 292.07240; HPLC: 98.7% bei 254 nm, 98.9% bei 280 nm, *t*_N = 4.4 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/Puffer; 20:80), λ_{max} = 235, 237, 274 nm.

6-Oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-carbonitril (**21d**)

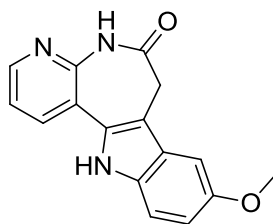
4-[2-(8-Oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5-yliden)hydrazinyl]benzonitril (**39d**, 100 mg, 0.340 mmol) wurde in Diphenylether (20 mL) für 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (60 mL) dazugegeben, der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit reichlich *n*-Hexan (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als beiger Feststoff (22.0 mg, 23.6%) erhalten.

Zers.: ab 343 °C; IR (KBr): 3429 (NH), 2915 (CH aliphat.), 2220 (CN), 1654 (C=O), 1384 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 12.32 (s, 1H), 10.45 (s, 1H), 8.48 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.44 – 8.30 (*m*, 1H), 8.19 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.63 – 7.59 (*m*, 1H), 7.54 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 7.37 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 3.72 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.2, 147.8, 139.2, 132.8, 126.3, 120.4, 116.9, 108.4, 101.5 (quart. C); 148.3, 135.7, 125.1, 124.3, 119.3, 112.7 (tert. C); 31.5 (sek. C); C₁₆H₁₀N₄O (274.28); MS (EI): *m/z* = 274 ([M]⁺•, 94), 245 ([M-CHO]⁺, 100); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 274.08491, gef. 274.08470; HPLC: 95.8% bei 254 nm, 96.9% bei 280 nm, *t*_N = 4.0 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 30:70), λ_{max} = 272, 322 nm.

9-Nitro-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21e)

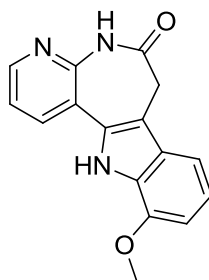
5-(2-(4-Nitrophenyl)hydrazono)-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39e**, 150 mg, 0.480 mmol) wurde in Diphenylether (40 mL) für 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (60 mL) dazugegeben, der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit reichlich *n*-Hexan (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als schwarzer Feststoff (5.0 mg, 3.5%) erhalten.

Zers.: ab 294 °C; IR (KBr): 3384 (NH), 2696 (CH aliph.), 1655 (C=O), 1261, 1100, 1022, 800 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.49 (s, 1H), 10.47 (s, 1H), 8.78 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 2.3 Hz), 8.49 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.21 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.09 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 9.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.3 Hz), 7.62 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 9.0 Hz), 7.38 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 3.78 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.1, 147.9, 140.9, 140.6, 134.0, 125.7, 116.7, 109.9 (quart. C); 148.5, 135.7, 119.3, 117.7, 115.7, 111.9 (tert. C); 31.5 (sek. C); C₁₅H₁₀N₄O₃ (294.26); MS (EI): *m/z* = 294 ([M]⁺, 100), 265 ([M-CHO]⁺, 55), 219 (59); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 294.07474, gef. 294.07454; HPLC: 95.4% bei 254 nm, 96.3% bei 280 nm, *t*_N = 3.1 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 239, 310 nm.

9-Methoxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21f)

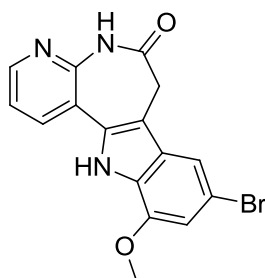
6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 4-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38f**, 297 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 2 h wurde konz. Schwefelsäure (0.7 mL) zugegeben und die Reaktionslösung auf 70 °C erhitzt. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (310 mg, 98.4%) wurde als brauner, kristalliner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 297 °C; IR (KBr): 3424, 3267 (NH), 1646 (C=O), 1217 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.56 (s, 1H), 10.33 (s, 1H), 8.41 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.14 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.36 – 7.31 (*m*, 2H), 7.21 (*d*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 2.4 Hz), 6.83 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz), 3.81 (s, 3H), 3.62 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.5, 153.7, 147.3, 132.9, 130.8, 126.8, 117.9, 107.7 (quart. C); 147.4, 135.3, 119.3, 113.1, 112.3, 99.6 (tert. C); 31.9 (sek. C); 55.4 (prim. C); C₁₆H₁₃N₃O₂ (279.29); MS (EI): *m/z* = 279 ([M]⁺, 100), 250 ([M-CHO]⁺, 47), 235 ([M-44]⁺, 21); HPLC: 96.7% bei 254 nm, 96.8% bei 280 nm, *t*_N = 4.7 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 223, 312, 343 nm.

11-Methoxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21g)

6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38g**, 297 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde konz. Schwefelsäure (1 mL) zur Reaktionslösung getropft. Nach weiteren 2 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Es wurde ein Produktgemisch (53 mg) erhalten, das nicht weiter aufgereinigt werden konnte.

C₁₆H₁₃N₃O₂ (279.29); HPLC: 61.5% bei 254 nm, 63.3% bei 280 nm, t_N = 3.1 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{\max} = 231, 310 nm.

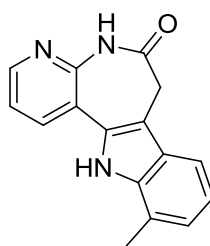
9-Brom-11-methoxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21h)

5-[2-(4-Brom-2-methoxyphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39h**, 534 mg, 1.40 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (20 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Es erfolgte eine Zugabe von konz. Schwefelsäure (1.2 mL, 3 x 0.4 mL), wobei die zweite und dritte Zugabe stündlich

erfolgte. Nach 4 h wurde die Reaktionslösung auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (20 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol/Toluol (1:1) umkristallisiert. Der Niederschlag wurde anschließend abzentrifugiert. Der erhaltene Feststoff wurde in DMF gelöst (153 mg in ca. 15 mL) und für mehrere Tage in eine mit Methylenchlorid gesättigte Atmosphäre gestellt. Der entstandene Niederschlag wurde zentrifugiert und getrocknet. Das Produkt (59.0 mg, 16.5%) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 313 °C; IR (KBr): 3348, 3178 (NH), 1655 (C=O) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.96 (s, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.42 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 8.26 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz), 7.55 (d, 1H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.5$ Hz), 7.31 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz), 6.90 (d, 1H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz), 3.98 (s, 3H), 3.58 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.3, 147.5, 146.6, 131.3, 128.5, 126.7, 117.4, 111.8, 108.0 (quart. C); 147.7, 136.3, 119.1, 113.3, 106.2 (tert. C); 31.7 (sek. C); 38.9 (prim C); $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}_2$ (358.19); MS (EI): m/z = 357 ($[\text{M}]^+ \bullet$, 100), 328 ($[\text{M-CHO}]^+$, 46), 206 ($[\text{M-151}]^+$, 29); HRMS (EI): m/z ($[\text{M}]^+ \bullet$) ber. 357.01074, gef. 357.01044; HPLC: 92.9% bei 254 nm, 94.5% bei 280 nm, $t_N = 6.3$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 40:60), $\lambda_{\text{max}} = 232, 259, 314$ nm.

11-Methyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]-indol-6(5*H*)-on (21i)

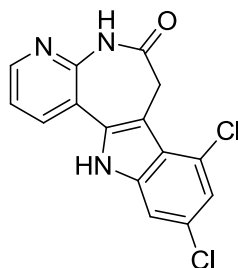


5-[2-(2-Methylphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39i**, 120 mg, 0.430 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt, mit einem Eis-Wasserbad gekühlt und gerührt. Nach Zugabe von konz. Schwefelsäure (0.5 mL) wurde der Ansatz für 2 h unter Eis-Wasserbad-Kühlung gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol/Toluol (1:1) umkristallisiert. Das

verunreinigte Produkt (8.0 mg, 7.1%) wurde als beiger Feststoff erhalten. (Auf Grund der Verunreinigung wurde kein Schmelzpunkt gemessen, kein IR-Spektrum angefertigt und es wurden keine biologischen Tests durchgeführt.)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.36 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 8.43 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.29 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 7.53 – 7.47 (m, 1H), 7.35 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 7.02 – 6.98 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.54 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.5, 147.5, 137.4, 130.2, 126.1, 120.9, 117.9, 108.5 (quart. C); 147.3, 135.9, 123.1, 119.5, 119.0, 115.6 (tert. C); 31.9 (sek. C); 16.9 (prim. C); $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ (263.29); MS (EI): m/z = 263 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 100), 234 ($[\text{M-CHO}]^+$, 86); HPLC: 85.4% bei 254 nm, 81.2% bei 280 nm, t_{N} = 4.2 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 40:60), λ_{max} = 314 nm.

8,10-Dichlor-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21j)

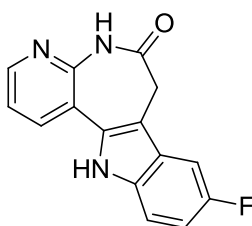


5-[2-(3,5-Dichlorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39j**, 171 mg, 0.510 mmol) wurde in Diphenylether (45 mL) für 5 h unter Stickstoff-Atmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (75 mL) dazugegeben, der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit reichlich Petrolether (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als grauer Feststoff (68.0 mg, 41.9%) erhalten.

Zers.: ab 340 °C; IR (KBr): 3423 (NH), 1649 (C=O) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 12.30 (s, 1H), 10.50 (s, 1H), 8.49 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.17 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 7.48 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 7.38 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 7.21 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 3.91 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.3, 147.8, 138.8, 133.4, 126.5, 124.9, 121.3, 116.8, 107.2 (quart. C); 148.5, 136.1, 120.3, 119.3, 110.6 (tert. C); 32.0 (sek. C);

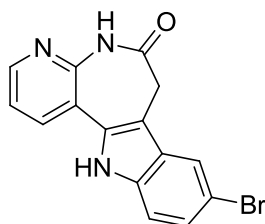
$C_{15}H_9Cl_2N_3O$ (318.16); ber. C 56.63, H 2.85, N 13.21; gef. C 56.01, H 2.82, N 13.25; MS (EI): m/z = 316 ($[M]^{+\bullet}$, 100), 287 ($[M-CHO]^+$, 85); HPLC: 98.5% bei 254 nm, 98.5% bei 280 nm, t_N = 3.8 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 234, 263, 318 nm.

9-Fluor-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21k)



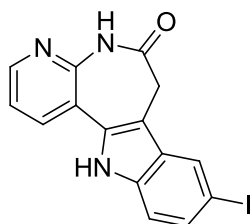
5-[2-(4-Fluorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39k**, 100 mg, 0.350 mmol) wurde in Diphenylether (20 mL) für 4 h unter Stickstoff-Atmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (60 mL) dazugegeben, der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit reichlich *n*-Hexan (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als beiger Feststoff (52.0 mg, 55.9%) erhalten.

Zers.: ab 266 °C; IR (KBr): 3435 (NH), 1656 (C=O), 1578, 1383 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.25 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 8.43 (*dd*, 1H, ³ $J_{H,H}$ = 4.7 Hz, ⁴ $J_{H,H}$ = 1.8 Hz), 8.22 (*dd*, 1H, ³ $J_{H,H}$ = 7.8 Hz, ⁴ $J_{H,H}$ = 1.8 Hz), 7.52 (*ddd*, 1H, ³ $J_{H,F}$ = 9.9 Hz, ⁴ $J_{H,H}$ = 2.6 Hz, ⁵ $J_{H,H}$ = 0.5 Hz), 7.46 (*ddd*, 1H, ³ $J_{H,H}$ = 8.9 Hz, ⁴ $J_{H,F}$ = 4.5 Hz, ⁵ $J_{H,H}$ = 0.5 Hz), 7.34 (*dd*, 1H, ³ $J_{H,H}$ = 7.8 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 4.7 Hz), 7.03 (*ddd*, 1H, ³ $J_{H,F}$ = 9.5 Hz, ³ $J_{H,H}$ = 8.8 Hz, ⁴ $J_{H,H}$ = 2.6 Hz), 3.62 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 157.1 (¹ $J_{C,F}$ = 232.0 Hz), 147.7, 134.5, 132.4, 126.7 (³ $J_{C,F}$ = 10.3 Hz), 117.7, 107.8 (⁴ $J_{C,F}$ = 5.0 Hz) (quart. C); 147.6, 135.7, 119.3, 112.7 (³ $J_{C,F}$ = 9.6 Hz), 110.6 (² $J_{C,F}$ = 26.3 Hz), 102.9 (² $J_{C,F}$ = 23.7 Hz) (tert. C); 31.8 (sek. C); $C_{15}H_{10}FN_3O$ (267.26); MS (EI): m/z = 267 ($[M]^{+\bullet}$, 97), 238 ($[M-CHO]^+$, 100); HRMS (EI): m/z ($[M-H]^{+\bullet}$) ber. 267.08024, gef. 267.08020; HPLC: 97.8% bei 254 nm, 97.0% bei 280 nm, t_N = 4.0 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 318 nm.

9-Brom-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21I)

6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 4-Bromphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38I**, 303 mg, 1.36 mmol) und Natriumacetat (111 mg, 1.36 mmol) wurden in Eisessig (10 mL) vorgelegt und auf 70 °C erhitzt. Nach 1 h wurde konz. Schwefelsäure (0.2 mL) zugegeben und es wurde weiter bei 70 °C gerührt. Nach 4 h wurde 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) hinzugefügt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (159 mg, 43.3%) als hellgelber Feststoff erhalten.

Zers.: ab 290 °C (Lit.: 330 °C¹⁰⁴); IR (KBr): 3269 (NH), 1649 (C=O), 803, 785 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.91 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.44 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.20 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.95 (dd, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.5 Hz), 7.44 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.5 Hz), 7.35 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.30 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 3.64 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.3, 147.8, 137.1, 131.9, 128.2, 118.0, 112.8, 107.3 (quart. C); 147.9, 135.7, 124.9, 121.2, 119.3, 113.6 (tert. C); 31.6 (sek. C); C₁₅H₁₀BrN₃O (328.16); HPLC: 98.6% bei 254 nm, 97.5% bei 280 nm, *t*_N = 5.4 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 232, 318 nm.

9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21m)

Methode A:

5-[2-(4-Iodphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39m**, 380 mg, 0.970 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt. Anschließend wurde konz. Schwefelsäure (0.7 mL) zugetropft und auf 70 °C erhitzt. Nach 2 h wurde die Reaktionslösung abgekühlt und auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (229 mg, 63.1%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Daten nach Methode A:

Zers.: ab 302 °C; IR (KBr): 3269 (NH), 1647 (C=O), 1367 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.89 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.44 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.16 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.12 (*d*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 1.7 Hz), 7.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.7 Hz), 7.35 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.31 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.5 Hz), 3.62 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.3, 147.9, 136.8, 131.4, 129.0, 117.3, 107.0, 83.0 (quart. C); 147.7, 135.6, 130.4, 126.8, 119.3, 113.9 (tert. C); 31.6 (sek. C); C₁₅H₁₀IN₃O (375.16); MS (EI): *m/z* = 375 ([M]⁺•, 100), 346 ([M-CHO]⁺, 39); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 374.98631, gef. 374.98666; HPLC: 98.6% bei 254 nm, 98.2% bei 280 nm, *t*_N = 7.0 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 231, 324 nm.

Methode B:

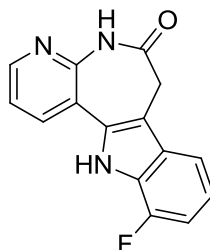
6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 1.0 g, 5.7 mmol) und 4-Iodphenylhydrazin (**38m**, 1.99 g, 8.50 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (50 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde konz.

Schwefelsäure (0.4 mL) zum Reaktionsgemisch gegeben und auf 70 °C erhitzt. Nach weiteren 5 h wurde das Reaktionsgemisch abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (200 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (1.74 g, 81.7%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Daten nach Methode B:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.89 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.44 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.16 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.12 (d, 1H, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 7.45 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.5 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 7.35 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 7.31 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.5 Hz, $^5J_{\text{H,H}}$ = 0.5 Hz), 3.62 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.3, 147.9, 136.8, 131.4, 129.0, 117.3, 107.0, 83.0 (quart. C); 147.7, 135.6, 130.4, 126.8, 119.3, 113.9 (tert. C); 31.6 (sek. C); $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{IN}_3\text{O}$ (375.16); HPLC: 97.4% bei 254 nm, 97.0% bei 280 nm, t_{N} = 6.9 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 40:60), λ_{max} = 230, 324 nm.

11-Fluor-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21n)



Methode A:

5-[2-(2-Fluorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39n**, 111 mg, 0.390 mmol) wurde in Diphenylether (20 mL) für 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (60 mL) dazugegeben, der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit reichlich *n*-Hexan (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als beiger Feststoff (23.0 mg, 22.1%) erhalten. (Auf Grund der Verunreinigung wurde kein Schmelzpunkt gemessen, kein IR-Spektrum angefertigt und es wurden keine biologischen Tests durchgeführt.)

Daten nach Methode A:

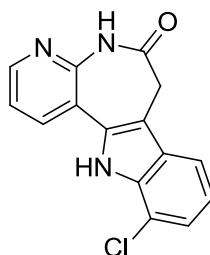
HPLC: 72.1% bei 254 nm, 79.9% bei 280 nm, $t_N = 3.5$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/H₂O; 40:60), $\lambda_{\max} = 271, 310$ nm.

Methode B:

5-[2-(2-Fluorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39n**, 107 mg, 0.380 mmol) wurde in Eisessig (20 mL) für 3 h bei Raumtemperatur mit Zusatz von konz. Schwefelsäure (0.5 mL) gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt als beiger Feststoff (19.0 mg, 18.8%) erhalten. (Auf Grund der Verunreinigung wurde kein Schmelzpunkt gemessen, kein IR-Spektrum angefertigt und es wurden keine biologischen Tests durchgeführt.)

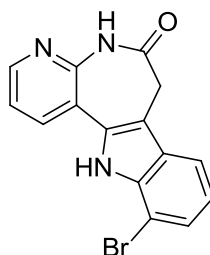
Daten nach Methode B:

Zers.: 420 °C; IR (KBr): 3430 (NH), 1654 (C=O) cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 12.09$ (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.27 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.55 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.2 Hz), 7.35 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.17 – 6.86 (*m*, 2H), 3.64 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 171.3, 148.9$ (d, ¹*J*_{H,F} = 243.5), 147.6, 131.6, 130.1 (d, ⁴*J*_{H,F} = 5.8 Hz), 125.5 (d, ²*J*_{H,F} = 13.4 Hz), 117.3, 108.7 (d, ³*J*_{H,F} = 6.1 Hz) (quart. C); 147.8, 136.0, 119.6 (d, ³*J*_{H,F} = 6.1 Hz), 119.2, 114.4 (d, ⁴*J*_{H,F} = 3.2 Hz), 107.3 (d, ²*J*_{H,F} = 16.1 Hz) (tert. C); 31.8 (sek. C); C₁₅H₁₀FN₃O (267.26); MS (EI): *m/z* = 267 ([M]⁺, 100), 238 ([M-CHO]⁺, 91); HPLC: 80.4% bei 254 nm, 83.0% bei 280 nm, $t_N = 3.5$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/H₂O; 40:60), $\lambda_{\max} = 248, 302, 312$ nm.

11-Chlor-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21o)

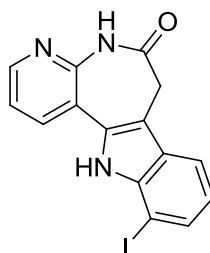
5-[2-(2-Chlorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39o**, 200 mg, 0.700 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt. Anschließend wurde konz. Schwefelsäure (0.7 mL) zugetropft und auf 40 °C erhitzt. Nach 4 h wurde die Reaktionslösung abgekühlt und auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (91.0 mg, 48.7%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Zers.: ab 291 °C; IR (KBr): 3191 (NH), 1656 (C=O), 1356 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.88 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 8.46 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 8.34 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 7.71 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz), 7.35 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.29 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz), 7.11 (*t*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz), 3.63 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 147.6, 134.6, 131.8, 128.2, 117.2, 115.9, 109.1 (quart. C), 147.9, 136.7, 122.0, 120.3, 119.0, 117.2 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₁₅H₁₀ClN₃O (283.71); MS (EI): *m/z* = 283 ([M]⁺•, 100), 254 ([M-CHO]⁺, 91); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 282.04287, gef. 282.04308; HPLC: 99.1% bei 254 nm, 98.9% bei 280 nm, *t*_N = 4.8 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 313, 395 nm.

11-Brom-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21p)

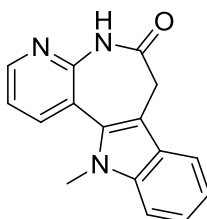
5-[2-(2-Bromphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39p**, 200 mg, 0.580 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt. Anschließend wurde konz. Schwefelsäure (2 x 0.7 mL) zugetropft und auf 40 °C erhitzt. Nach 7 h wurde die Reaktionslösung abgekühlt und auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (65.0 mg, 34.2%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Zers.: ab 310 °C; IR (KBr): 3187 (NH), 1663 (C=O), 1353 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.72 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.45 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.35 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.78 – 7.72 (*m*, 1H), 7.43 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.9 Hz), 7.35 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.09 – 7.02 (*m*, 1H), 3.62 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 147.8, 135.9, 131.7, 127.9, 117.0, 109.3, 104.1 (quart. C); 136.9, 147.9, 125.2, 120.7, 118.9, 117.6 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₁₅H₁₀BrN₃O (328.16); MS (EI): *m/z* = 327 ([M]⁺•, 100), 298 ([M-CHO]⁺, 73), 219 (41); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 327.00018, gef. 326.99991; HPLC: 97.5% bei 254 nm, 97.6% bei 280 nm, *t*_N = 5.3 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 231, 312, 400 nm.

11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21q)

5-[2-(2-Iodphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9*H*)-on (**39q**, 230 mg, 0.580 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt. Anschließend wurde konz. Schwefelsäure (0.7 mL) zugetropft und auf 70 °C erhitzt. Nach 1 h wurde die Reaktionslösung abgekühlt und auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (65.0 mg, 51.2%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

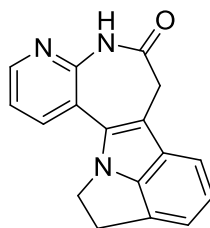
Zers.: ab 330 °C; IR (KBr): 3421, 3192 (NH), 1667 (C=O) cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.40 (s, 1H), 10.36 (s, 1H), 8.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.35 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.75 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz), 7.62 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.9 Hz), 7.34 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 6.92 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz), 3.59 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.5, 147.6, 139.8, 131.5, 126.9, 117.3, 109.6, 76.8 (quart. C); 147.7, 137.2, 131.9, 121.3, 118.9, 118.3 (tert. C); 31.9 (sek. C); C₁₅H₁₀IN₃O (375.16); MS (EI): *m/z* = 375 ([M]⁺•, 100), 346 ([M-CHO]⁺, 51), 219 (25); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 374.98631, gef. 374.98555; HPLC: 98.1% bei 254 nm, 97.8% bei 280 nm, *t*_N = 6.7 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 316 nm.

12-Methyl-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21r)

6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.10 mmol) wurde mit 1-Methyl-1-phenylhydrazin (**38r**, 153 mg, 1.20 mmol, 0.15 mL) in Eisessig (10 mL) vorgelegt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70 °C erhitzt und dünnschichtchromatographisch überwacht. Nach 2 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und auf eine 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der Niederschlag wurde abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (221 mg, 74.2%) wurde als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.

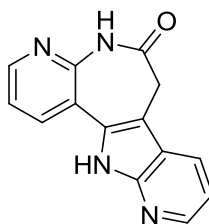
Zers.: ab 268 °C; IR (KBr): 3423 (NH), 1677 (C=O), 1465, 741 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.38 (s, 1H), 8.49 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.22 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.77 – 7.70 (*m*, 1H), 7.57 (*m*, 1H), 7.37 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.29 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.2 Hz), 7.16 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.9 Hz), 3.83 (s, 3H), 3.53 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 172.5, 148.4, 139.2, 131.7, 125.1, 116.8, 110.4 (quart. C); 147.7, 137.4, 122.7, 119.70, 119.0, 118.2, 110.0 (tert. C); 31.6 (sek. C); 31.5 (prim. C); C₁₆H₁₃N₃O (263.29); ber. C 72.99, H 4.98, N 15.96; gef. C 72.62, H 4.92, N 15.81; MS (EI): *m/z* = 263 ([M]⁺, 81), 248 ([M-CH₃]⁺, 74), 234 ([M-CHO]⁺, 100); HPLC: 99.5% bei 254 nm, 99.5% bei 280 nm, *t*_N = 5.61 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 35:65), λ_{max} = 229, 310 nm.

5,7,11,12-Tetrahydro-6*H*-pyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]pyrrolo[3,2,1-*h*]indol-6-on
(21s)



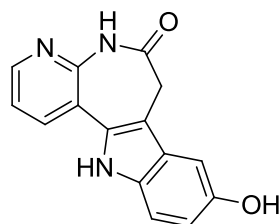
6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.10 mmol), 1-Aminoindolin-Hydrochlorid (**38s**, 290 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden in Eisessig (3 mL) in einem Mikrowellenreaktionsgefäß suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min im geschlossenen Reaktionsgefäß bei 120 °C bei 100 W und einem Maximaldruck von 150 PSI im Mikrowellensynthesegerät behandelt. Anschließend wurde die Reaktionslösung abgekühlt und auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (EE) und durch Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (10 mg, 3.2%) als hellgelbe Kristalle erhalten.

Schmp.: 257 - 263 °C; IR (KBr): 3436 (NH), 2912 (CH aliph.), 1675 (C=O), 1343 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.38 (s, 1H), 8.44 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.21 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.5 Hz), 7.38 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.9 Hz), 7.34 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.02 – 6.92 (*m*, 2H), 4.77 – 4.65 (*m*, 2H), 3.84 – 3.70 (*m*, 2H), 3.57 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 149.6, 147.3, 130.7, 125.0, 118.2, 117.6, 111.3 (quart. C); 147.4, 135.3, 121.9, 119.4, 116.1, 115.7 (tert. C); 49.9, 33.2, 33.1 (sek. C); C₁₇H₁₃N₃O (275.30); MS (EI): *m/z* = 275 ([M]⁺, 100), 246 ([M-CHO]⁺, 91); HRMS (EI): *m/z* ([M-H]⁺) ber. 274.09749, gef. 274.09754; HPLC: 93.3% bei 254 nm, 92.8% bei 280 nm, *t*_N = 5.3 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 233, 315 nm.

7,12-Dihydropyrido[2,3-*b*]pyrido[3',2':4,5]pyrrolo[2,3-*d*]azepin-6(5*H*)-on (21t)

6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.10 mmol) und 2-Hydrazinopyridin (**38t**, 185 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre vorgelegt. Eisessig (10 mL) wurde hinzugefügt und für 5 h unter Stickstoff-Atmosphäre auf 70 °C erhitzt. Die Reaktionslösung wurde abgekühlt und anschließend auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben und mit 25% wässrigem Ammoniak versetzt (ca. 4 mL). Der Niederschlag wurde abfiltriert, getrocknet und ohne weitere Aufreinigung in Diphenylether (60 mL) zum Rückfluss erhitzt. Nach 5 h wurde die Reaktionslösung abgekühlt und auf *n*-Hexan (120 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit reichlich *n*-Hexan (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (5.0 mg, 1.8%) als dunkelbrauner Feststoff erhalten.

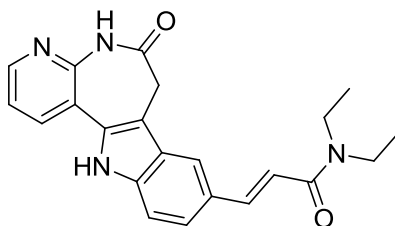
Zers.: ab 326 °C, IR (KBr): 3430 (NH), 2919 (CH aliphat.), 1688 (C=O), 1574, 1345 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.31 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 8.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.30 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 8.23 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.17 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.6 Hz), 7.35 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.15 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 3.65 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.2, 147.9, 147.7, 130.7, 118.9, 117.3, 106.3 (quart. C); 143.7, 135.9, 126.5, 119.2, 115.8, 110.4 (tert. C); 31.6 (sek. C); C₁₄H₁₀N₄O (250.26); MS (EI): *m/z* = 250 ([M]⁺•, 100), 221 ([M-CHO]⁺, 96); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 250.08491, gef. 250.08526; HPLC: 99.2% bei 254 nm, 98.0% bei 280 nm, *t*_N = 2.8 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 230, 320 nm.

9-Hydroxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (21v)

9-Methoxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21f**, 500 mg, 1.80 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Dichlormethan (30 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Bortribromid (7.20 mmol, 1 M-Lösung in Dichlormethan) zur Reaktionssuspension gegeben. Nach dreistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit Eiswasser gekühlt, anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser (40 mL) beendet. Aus dem Reaktionsgemisch wurde das organische Lösungsmittel abdestilliert. Der in der wässrigen Phase zurückbleibende Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (454 mg, 95.2%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 258 °C; IR (KBr): 3399 (OH), 2909, 1655 (C=O), 1370 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.38 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.40 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.11 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.32 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.25 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.7 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.6 Hz), 6.93 (*d*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 2.3 Hz), 6.73 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2.3 Hz), 3.50 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 151.0, 147.4, 123.4, 130.7, 127.1, 118.1, 107.0 (quart. C); 147.2, 135.2, 119.3, 113.2, 112.0, 101.7 (tert. C); 32.0 (sek. C); C₁₅H₁₁N₃O₂ (265.27); MS (EI): *m/z* = 265 ([M]⁺, 100), 236 ([M-CHO]⁺, 86); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 264.07675, gef. 264.07641; HPLC: 95.0% bei 254 nm, 94.9% bei 280 nm, *t*_N = 4.0 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 20:80), λ_{max} = 235, 314 nm.

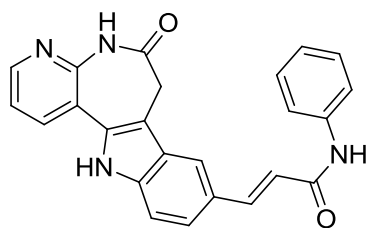
(E)-N,N-Diethyl-3-(6-oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-9-yl)acrylamid (**22a**)



9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), *N,N*-Diethylacrylamid (**55a**, 75 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das verschlossene Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (66.0 mg, 33.3%) als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 256 °C; IR (KBr): 3434, 3217 (NH), 2970, 2917, 1671 (C=O), 1639 (C=O) cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.88 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.44 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.17 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.15 – 8.09 (*m*, 1H), 7.64 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.3 Hz), 7.56 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.45 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz), 7.35 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.09 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.3 Hz), 3.71 (s, 2H), 3.56 (*q*, 2H, ³*J*_{H,H} = 7.0 Hz), 3.40 (*q*, 2H, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz), 1.17 (*t*, 3H, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz), 1.10 (*t*, 3H, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 165.0, 147.7, 138.5, 131.3, 126.9, 126.8, 117.5, 108.4 (quart. C); 147.6, 142.7, 135.4, 123.0, 119.3, 118.8, 115.3, 111.8 (tert. C); 45.7, 41.4, 31.8 (sek. C); 15.3, 13.3 (prim. C); C₂₂H₂₂N₄O₂ (374.44); MS (EI): *m/z* = 374 ([M]⁺, 63), 302 ([C₁₈H₁₂N₃O₂]⁺, 66), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 100); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 374.17373, gef. 374.17370; HPLC: 91.3% bei 254 nm, 93.3% bei 280 nm, *t*_N = 3.1 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 235, 306 nm.

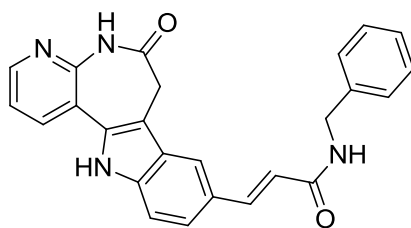
(E)-3-(6-Oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-yl)-*N*-phenyl-acrylamid (**22b**)



9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), *N*-Phenylacrylamid (**55b**, 87 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das verschlossene Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert und getrocknet. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (76.0 mg, 36.4%) als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 236 °C; IR (KBr): 3242 (NH), 1660 (C=O), 1438 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.96 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 8.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.19 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.01 (s, 1H), 7.78 – 7.66 (*m*, 3H), 7.52 (*d*, 2H, ⁴*J*_{H,H} = 1.1 Hz), 7.41 – 7.29 (*m*, 3H), 7.13 – 7.01 (*m*, 1H), 6.83 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.6 Hz), 3.68 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.2, 164.0, 147.8, 139.5, 138.6, 131.5, 126.8, 126.4, 117.5, 108.4 (quart. C); 147.7, 141.6, 135.4, 128.7 (2C), 123.0, 121.7, 119.2 (2C), 119.1, 119.0 (2C), 112.1 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₂₄H₁₈N₄O₂ (394.43); MS (EI): *m/z* = 394 ([M]⁺•, 38), 302 ([C₁₈H₁₂N₃O₂]⁺, 100), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 94); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 394.14243, gef. 394.14244; HPLC: 94.9% bei 254 nm, 96.4% bei 280 nm, *t*_N = 5.2 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 330, 347, 353 nm.

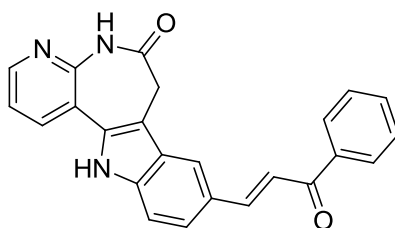
(E)-N-Benzyl-3-(6-oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-9-yl)-acrylamid (**22c**)



9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), *N*-Benzylacrylamid (**55c**, 95 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das verschlossene Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und mit Ethylacetat (220 mL) gewaschen. Der dabei entstandene Niederschlag im Filtrat wurde abfiltriert und getrocknet. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (63.0 mg, 29.2%) als hellbrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 214 °C; IR (KBr): 3345, 3196, 1654 (C=O), 1609 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.91 (s, 1H), 10.38 (s, 1H), 8.50 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 6.0 Hz), 8.44 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.17 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.94 (d, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 7.61 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.7 Hz), 7.48 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz), 7.45 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 7.41 – 7.14 (m, 6H), 6.69 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.7 Hz), 4.42 (d, 2H, ³*J*_{H,H} = 5.9 Hz), 3.66 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.3, 165.4, 139.6, 138.4, 131.4, 126.7, 126.6, 117.5, 108.3, 95.5 (quart. C); 140.4, 135.4, 128.3 (2C), 127.3 (2C), 126.7, 121.6, 119.3, 119.0, 112.1 (tert. C); 42.3, 31.8 (sek. C); C₂₅H₂₀N₄O₂ (408.45); MS (EI): *m/z* = 408 ([M]⁺, 38), 303 (100), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 48); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 408.15808, gef. 408.15799; HPLC: 94.1% bei 254 nm, 96.2% bei 280 nm, *t*_N = 3.9 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 235, 296, 315 nm.

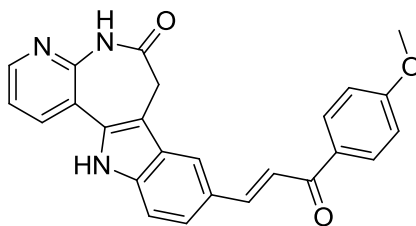
(E)-9-(3-Oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (23a)



9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 100 mg, 0.270 mmol), *N,N*-Dimethyl-3-oxo-3-phenylpropan-1-ammoniumchlorid (**56a**, 62 mg, 0.29 mmol), Triethylamin (2 mL) und Pd(OAc)₂ (11 mg, 0.050 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in DMF (5 mL) vorgelegt. Die Reaktionslösung wurde für 1 h auf 150 °C erhitzt. Die Reaktionslösung wurde über eine mit Kieselgel beschichtete Fritte mit Ethylacetat (500 mL) filtriert. Das Lösungsmittel wurde aus den vereinigten Filtraten unter vermindertem Druck abdestilliert. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (16.0 mg, 15.7%) als dunkelbrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 301 °C; IR (KBr): 3308 (NH), 1674 (C=O), 1650 (C=O), 1565 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.00 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 8.46 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.42 – 8.38 (*m*, 1H), 8.23 – 8.16 (*m*, 3H), 7.98 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.5 Hz), 7.92 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.5 Hz), 7.75 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.71 – 7.65 (*m*, 1H), 7.64 – 7.56 (*m*, 2H), 7.54 – 7.48 (*m*, 1H), 7.37 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 3.75 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 188.8, 171.3, 147.7, 139.2, 137.9, 131.6, 126.9, 126.2, 117.3, 108.6 (quart. C); 147.5, 146.0, 135.4, 132.7, 128.6 (2C), 128.3 (2C), 123.9, 120.2, 119.2, 118.7, 111.9 (tert. C); 31.6 (sek. C); C₂₄H₁₇N₃O₂ (379.41); MS (EI): *m/z* = 379 ([M]⁺•, 100), 350 ([M-CHO]⁺, 44), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 19); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 378.12370, gef. 378.12343; HPLC: 90.9% bei 254 nm, 92.2% bei 280 nm, *t*_N = 3.6 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 230, 335, 353 nm.

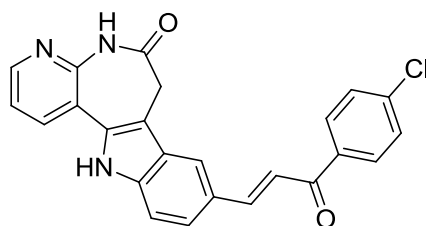
(E)-9-(3-(4-Methoxyphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]-azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (**23b**)



9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(4-Methoxyphenyl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56b**, 123 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (4 mL) und Pd(OAc)₂ (22 mg, 0.10 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in DMF (10 mL) vorgelegt und für 1 h bei 150 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Dieser aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (7.00 mg, 3.2%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 271 °C; IR (KBr): 3433, 3264, 2911, 1648, 1601 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.98 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 8.45 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.37 (d, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 8.21 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.9 Hz), 8.20 – 8.17 (m, 2H), 7.97 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 7.88 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 7.73 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.50 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz), 7.37 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.11 (d, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.8 Hz), 3.88 (s, 3H), 3.75 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 187.1, 171.3, 162.9, 147.5, 139.0, 131.5, 130.7, 126.9, 126.4, 117.3, 108.6 (quart. C), 147.7, 145.1, 135.4, 130.7 (2C), 123.9, 120.0, 119.2, 118.7, 113.8 (2C), 111.8 (tert. C); 31.7 (sek. C); 55.4 (prim. C); C₂₅H₁₉N₃O₃ (409.44); MS (EI): *m/z* = 409 ([M]⁺, 100), 380 ([M-CHO]⁺, 23), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 11); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 409.14209, gef. 409.14173; HPLC: 93.9% bei 254 nm, 94.6% bei 280 nm, *t*_N = 3.5 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 333, 347, 388 nm.

(E)-9-(3-(4-Chlorphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino-[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (23c)



Methode A:

9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(4-Chlorphenyl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56c**, 125 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (1 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg) wurden in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1 h bei 140 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde wieder abfiltriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (48.0 mg, 22.0%) wurde als rot-brauner Feststoff erhalten.

Methode B:

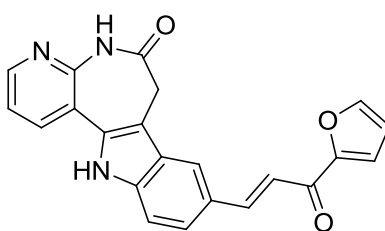
9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(4-Chlorphenyl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56c**, 125 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung

isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (23.0 mg, 10.6%) wurde als rot-brauner Feststoff erhalten.

Daten nach Methode A und B:

Zers.: ab 291°C; IR (KBr): 3434 (NH), 2913 (CH aliph.), 1649 (C=O), 1590 (C=O) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 12.02 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 8.46 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 8.42 – 8.37 (m, 1H), 8.22 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz), 8.19 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.9$ Hz), 7.97 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 15.5$ Hz), 7.93 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 15.5$ Hz), 7.75 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz), 7.66 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz), 7.51 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.5$ Hz), 7.37 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz), 3.75 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 187.8, 171.4, 147.6, 139.3, 137.1, 136.7, 131.7, 127.0, 126.4, 117.4, 108.7 (quart. C); 147.8, 146.6, 135.5, 130.3 (2C), 128.8 (2C), 124.1, 120.4, 119.3, 118.5, 112.0 (tert. C); 31.7 (sek. C); $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$ (413.86); MS (EI): m/z = 413 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 100), 384 ($[\text{M-CHO}]^+$, 47), 274 ($[\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}]^+$, 17); HRMS (EI): m/z ($[\text{M-H}]^{+\bullet}$) ber. 412.08473, gef. 412.08510; HPLC: 92.0% bei 254 nm, 94.2% bei 280 nm, t_N = 6.5 min, t_M = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 50:50), λ_{max} = 333, 347, 384 nm.

(E)-9-(3-(Furan-2-yl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (23d)

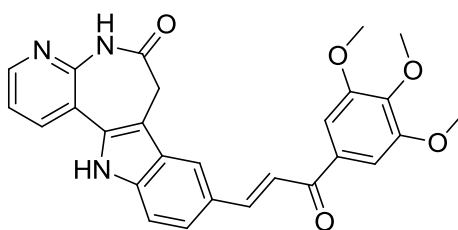


9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(Furan-2-yl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56d**, 99 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (2 mL) und $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (22 mg, 0.10 mmol) wurden in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1.5 h bei 145 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag,

der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (31.0 mg, 15.9%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 319 °C; IR (KBr): 3432 (NH), 2917 (CH aliph.), 1673 (C=O), 1648 (C=O), 1572, 1464 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.01 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 8.45 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.32 (*dd*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz, ⁵*J*_{H,H} = 0.8 Hz), 8.19 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.07 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 1.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.7 Hz), 7.90 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.6 Hz), 7.82 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 3.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.8 Hz), 7.74 – 7.70 (*m*, 2H), 7.51 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz), 7.37 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 6.81 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 3.5 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.7 Hz), 3.73 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 176.6, 171.3, 153.1, 147.5, 139.1, 131.6, 126.9, 126.0, 117.3, 108.6 (quart. C); 147.9, 147.8, 144.6, 135.4, 123.7, 120.2, 119.2, 118.7 (2C), 112.5, 111.9 (tert. C), 31.7 (sek. C); C₂₂H₁₅N₃O₃ (396.37); MS (EI): *m/z* = 369 ([M]⁺•, 100), 340 ([M-CHO]⁺, 52), HRMS (EI): *m/z* ([M-H]⁺•) ber. 369.11079, gef. 369.11106; HPLC: 90.1% bei 254 nm, 90.4% bei 280 nm, *t*_N = 4.2 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 229, 313, 371 nm.

(*E*)-9-(3-Oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-1-en-1-yl)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]-azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (23e)

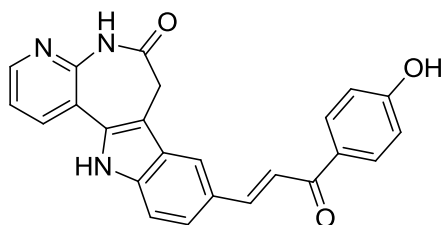


9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), *N,N*-Dimethyl-3-oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ammoniumchlorid (**56e**, 141 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (2 mL) und Pd(OAc)₂ (22 mg, 0.10 mmol) wurden in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1.5 h bei 145 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in

der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (37.0 mg, 14.9 %) wurde als brauner Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 12.01 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 8.45 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.34 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 8.19 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 7.94 (s, 2H), 7.82 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.5 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.52 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.5 Hz), 7.46 (s, 2H), 7.37 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 3.93 (s, 6H), 3.78 (s, 3H), 3.74 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 187.7, 171.3, 152.9 (2C), 147.8, 141.7, 139.2, 133.5, 131.6, 126.9, 126.4, 117.4, 108.7 (quart. C); 147.6, 145.9, 135.4, 123.6, 120.8, 119.3, 118.7, 111.9, 106.1 (2C) (tert. C); 31.8 (sek. C); 60.2, 56.2 (2C) (prim. C); $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$ (469.49); MS (EI): m/z = 469 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 100), 274 ($[\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}]^+$, 11); HPLC: 74.8% bei 254 nm, 71.0% bei 280 nm, t_{N} = 8.3 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 40:60), λ_{max} = 226, 335, 365 nm.

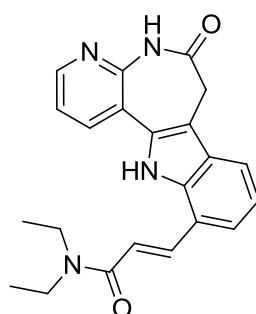
(*E*)-9-[3-(4-Hydroxyphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]-indol-6(5*H*)-on (23f)



9-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21m**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(4-Hydroxyphenyl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56f**, 115 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (2 mL) und $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (22 mg, 0.10 mmol) wurden in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1.5 h bei 145 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (12 mg, 5.7%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.97 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.45 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.40 – 8.31 (m, 1H), 8.19 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.12 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.8 Hz), 7.94 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 15.4 Hz), 7.85 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 15.4 Hz), 7.71 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.50 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.5 Hz), 7.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 6.92 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.7 Hz), 3.75 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 187.0, 171.4, 161.9, 147.6, 139.1, 131.6, 129.5, 126.9, 126.5, 117.4, 108.6 (quart. C); 147.8, 144.7, 135.4, 130.9 (2C), 123.9, 119.8, 119.3, 118.9, 115.3 (2C), 111.9 (tert. C); 31.7 (sek. C); $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ (395.41); MS (EI): m/z = 395 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 100), 366 ($[\text{M-CHO}]^+$, 43); HPLC: 86.7% bei 254 nm, 84.9% bei 280 nm, t_{N} = 3.3 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 40:60), λ_{max} = 229, 358 nm.

(E)-N,N-Diethyl-3-(6-oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-11-yl)acrylamid (**24a**)

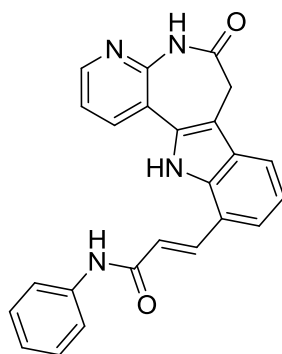


11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (**21q**, 200 mg, 0.530 mmol), *N,N*-Diethylacrylamid (**55a**, 75 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das verschlossene Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen und getrocknet. Der entstandene Niederschlag in der Waschlösung wurde filtriert und getrocknet. Nach Umkristallisation der beiden

Niederschläge aus Ethanol wurde das Produkt (63.0 mg, 31.8%) als beiger Feststoff erhalten.

Zers.: ab 216 °C; IR (KBr): 3233 (NH), 2972 (CH aliph.), 1668 (C=O), 1636 (C=O) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.95 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.48 – 8.40 (m, 1H), 8.35 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 8.25 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 15.2$ Hz), 7.75 (dd, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.9$ Hz), 7.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz), 7.20 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 15.2$ Hz), 7.17 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz), 3.63 (s, 2H), 3.56 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz), 3.43 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz), 1.20 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz), 1.12 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.4, 164.8, 147.6, 136.6, 131.1, 127.3, 119.7, 117.6, 108.4 (quart. C); 147.6, 136.3, 136.2, 120.0, 119.6, 119.5, 119.0, 118.8 (tert. C); 41.5, 40.2, 31.8 (sek. C); 15.2, 13.3 (prim. C); $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$ (374.44); MS (EI): m/z = 374 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 89), 302 ($[\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2]^+$, 51), 274 ($[\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}]^+$, 68), 259 (100); HRMS (EI): m/z ($[\text{M}]^{+\bullet}$) ber. 374.1737, gef. 374.17321; HPLC: 95.9% bei 254 nm, 97.5% bei 280 nm, $t_{\text{N}} = 5.6$ min, $t_{\text{M}} = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 40:60), $\lambda_{\text{max}} = 271, 306, 343$ nm.

(E)-3-(6-Oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-11-yl)-N-phenyl-acrylamid (**24b**)

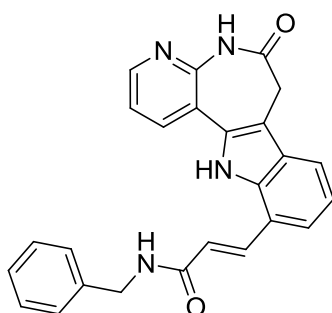


11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (**21q**, 200 mg, 0.530 mmol), *N*-Phenylacrylamid (**55b**, 87 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das verschlossene Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde

über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen und getrocknet. Der entstandene Niederschlag in der Waschlösung wurde filtriert und getrocknet. Nach Umkristallisation der beiden Niederschläge aus Ethanol wurde das Produkt (168 mg, 80.4%) als graubrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 289 °C; IR (KBr): 3435 (NH), 2908 (CH aliph.), 1652 (C=O), 1624 (C=O), 1442, 1359 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.03 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 10.25 (s, 1H), 8.46 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.42 – 8.32 (m, 2H), 7.83 – 7.72 (m, 3H), 7.58 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz), 7.44 – 7.29 (m, 3H), 7.21 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz), 7.13 – 7.04 (m, 1H), 6.99 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.5 Hz), 3.65 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.4, 163.8, 147.7, 139.4, 136.7, 131.3, 127.5, 119.1, 117.5, 108.4 (quart. C); 147.6, 136.3, 135.6, 128.8 (2C), 123.3, 122.3, 119.9, 119.8, 119.4, 119.2 (2C), 119.1 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₂₄H₁₈N₄O₂ (394.43); MS (EI): *m/z* = 394 ([M]⁺, 52), 302 ([C₁₈H₁₂N₃O₂]⁺, 100), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 99), 259 (56); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 394.14243, gef. 394.14233; HPLC: 98.1% bei 254 nm, 98.9% bei 280 nm, *t*_N = 8.5 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 275, 309, 346 nm.

(*E*)-*N*-Benzyl-3-(6-oxo-5,6,7,12-tetrahydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-11-yl)-acrylamid (**24c**)

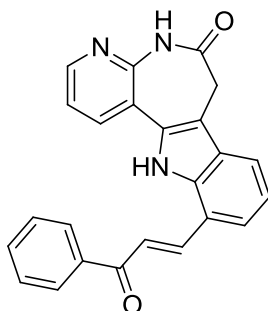


11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21q**, 200 mg, 0.530 mmol), *N*-Benzylacrylamid (**55c**, 95 mg, 0.59 mmol), Triethylamin (101 mg, 1.00 mmol, 0.14 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg, 0.03 mmol) wurden im Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und in DMF (3 mL) gelöst. Im Mikrowellensynthesegerät wurde das verschlossene Reaktionsgefäß einer Temperatur von 100 °C bei 100 W

und einem Druck von 150 PSI für 40 min ausgesetzt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit *n*-Hexan gewaschen und getrocknet. Der entstandene Niederschlag in der Waschlösung wurde filtriert und getrocknet. Nach Umkristallisation der beiden Niederschläge aus Ethanol wurde das Produkt (49.0 mg, 22.7%) als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 226 °C; IR (KBr): 3423 (NH), 2918 (CH aliphat.), 1655 (C=O), 1441, 1350 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 11.95 (s, 1H), 10.38 (s, 1H), 8.64 (t, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.0 Hz), 8.44 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 8.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.9 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.23 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 15.5 Hz), 7.95 (s, 1H), 7.75 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 0.9 Hz), 7.59 – 7.45 (m, 1H), 7.44 – 7.30 (m, 4H), 7.32 – 7.20 (m, 1H), 7.22 – 7.09 (m, 1H), 6.86 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 15.6 Hz), 4.46 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.9 Hz), 3.63 (s, 2H); ^{13}C -NMR (100.6 MHz, DMSO- d_6): δ = 171.4, 165.2, 162.3, 147.7, 139.4, 136.6, 131.2, 127.4, 117.6, 108.4 (quart. C); 147.6, 136.3, 134.5, 128.3 (2C), 127.4 (2C), 126.8, 122.1, 119.5, 119.5, 119.3, 119.0 (tert. C); 42.3, 35.7 (sek. C); $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$ (408.45); MS (EI): m/z = 408 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 95), 301 (52), 274 ($[\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}]^+$, 21), 259 (100); HRMS (EI): m/z ($[\text{M}]^{+\bullet}$) ber. 408.15808, gef. 408.15883; HPLC: 96.8% bei 254 nm, 97.1% bei 280 nm, t_{N} = 6.4 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 40:60), λ_{max} = 269, 338 nm.

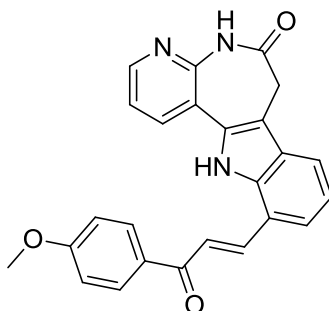
(E)-11-(3-Oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]-indol-6(5H)-on (25a)



11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (**21q**, 200 mg, 0.530 mmol), *N,N*-Dimethyl-3-oxo-3-phenylpropan-1-ammoniumchlorid (**56a**, 126 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (1 mL) und Pd(OAc)₂ (7 mg) wurden in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1 h bei 140 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (12 mg, 6.0%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 319 °C; IR (KBr): 3246 (NH), 2909 (CH aliph.), 1672 (C=O), 1645 (C=O), 1326, 1218 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.09 (s, 1H), 10.41 (s, 1H), 8.58 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 8.46 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.37 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.25 – 8.20 (m, 2H), 8.08 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.3 Hz), 8.04 – 7.98 (m, 1H), 7.86 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz), 7.72 – 7.67 (m, 1H), 7.60 (dd, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz), 7.38 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.22 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz), 3.66 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 188.9, 171.3, 147.6, 137.7, 137.2, 131.3, 127.5, 188.8, 117.4, 108.4 (quart. C); 147.7, 139.3, 136.3, 133.0, 128.7 (2C), 128.4 (2C), 121.5, 121.0, 120.9, 119.7, 119.0 (tert. C); 31.7 (sek. C); C₂₄H₁₇N₃O₂ (379.41); MS (EI): *m/z* = 379 ([M]⁺, 100), 362 (55), 302 ([C₁₈H₁₂N₃O₂]⁺, 39), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 70), 105 (59); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 379.13153, gef. 379.13143; HPLC: 91.1% bei 254 nm, 95.6% bei 280 nm, *t*_N = 5.6 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 274, 359, 369 nm.

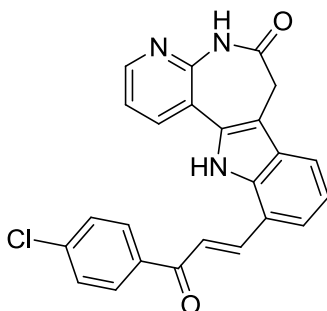
(E)-11-[3-(4-Methoxyphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]-azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (25b)



11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21q**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(4-Methoxyphenyl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56b**, 123 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (4 mL) und Pd(OAc)₂ (22 mg, 0.10 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in DMF (10 mL) vorgelegt und für 2 h bei 150 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand in der Waschlösung ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der *n*-Hexan-Waschlösung isolierte Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (106 mg, 48.8%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

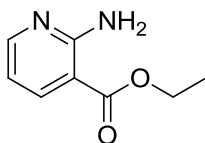
Zers.: ab 254 °C; IR (KBr): 3443 (NH), 2973 (CH aliph.), 1683 (C=O), 1601 (C=O), 1170 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.07 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.52 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 8.46 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.37 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.23 (d, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.9 Hz), 8.07 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.3 Hz), 8.00 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz), 7.84 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz), 7.38 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.22 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz), 7.11 (d, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.9 Hz), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 187.3, 171.4, 163.1, 147.6, 137.2, 131.4, 130.7, 127.6, 119.0, 117.5, 108.5 (quart. C); 147.8, 138.6, 136.4, 130.9 (2C), 121.7, 120.9, 120.8, 119.8, 119.1, 114.0 (2C) (tert. C); 31.8 (sek. C); 55.6 (prim C); C₂₅H₁₉N₃O₃ (409.44); MS (EI): *m/z* = 409 ([M]⁺, 100), 392 (67), 380 ([M-CHO]⁺, 10), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 53), 135 (96); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺) ber. 409.14209, gef. 409.14212; HPLC: 96.0% bei 254 nm, 96.7% bei 280 nm, *t*_N = 5.5 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 234, 313, 363 nm.

(E)-11-[3-(4-Chlorphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (25c)



11-Iod-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-b]indol-6(5H)-on (**21q**, 200 mg, 0.530 mmol), 3-(4-Chlorphenyl)-*N,N*-dimethyl-3-oxopropan-1-ammoniumchlorid (**56c**, 123 mg, 0.590 mmol), Triethylamin (4 mL) und Pd(OAc)₂ (22 mg, 0.10 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in DMF (10 mL) vorgelegt und für 2 h bei 150 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit *n*-Hexan (320 mL) gewaschen. Dabei entstand erneut ein Niederschlag, der wiederum abfiltriert wurde. Der aus der Fällung mit *n*-Hexan entstandene Niederschlag wurde aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (75.0 mg, 22.7%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Zers.: ab 272 °C; IR (KBr): 3427 (NH), 2919 (CH aliph.), 1657 (C=O), 1592 (C=O), 1357, 1330 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.09 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.59 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 8.46 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.37 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.25 (d, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz), 8.07 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 8.02 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz), 7.92 – 7.82 (m, 1H), 7.67 (d, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz), 7.38 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.22 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz), 3.66 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 187.9, 171.4, 147.8, 142.1, 138.0, 137.3, 131.4, 127.6, 118.8, 117.4, 108.5 (quart. C); 147.7, 139.8, 136.5, 130.5 (2C), 128.9 (2C), 121.3, 121.2, 121.1, 119.8, 119.1 (tert. C); 31.8 (sek. C); C₂₄H₁₆ClN₃O₂ (413.86); MS (EI): *m/z* = 413 ([M]⁺•, 100), 274 ([C₁₇H₁₂N₃O]⁺, 91), 139 (64); HRMS (EI): *m/z* ([M]⁺•) ber. 413.09256, gef. 413.09315; HPLC: 92.5% bei 254 nm, 97.2% bei 280 nm, *t*_N = 4.6 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 60:40), λ_{max} = 224, 279, 372 nm.

2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylester (27)

Methode A:

2-Aminopyridin-3-carbonsäure (**26**, 5.0 g, 40 mmol) wurde in Aceton (120 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von Iodethan (17.6 g, 110 mmol, 9.00 mL) und Kaliumcarbonat (35.6 g, 400 mmol) wurde das Reaktionsgemisch für 16 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgte eine erneute Zugabe von Iodethan (10.5 g, 70.0 mmol, 5.40 mL). Anschließend wurde für weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Kaliumcarbonat abfiltriert. Das Lösungsmittel des Filtrats wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Der verbliebene Rückstand wurde aus Ethanol umkristallisiert. Es wurden 5.20 g (78.2%) farblose Kristalle erhalten.

Methode B:

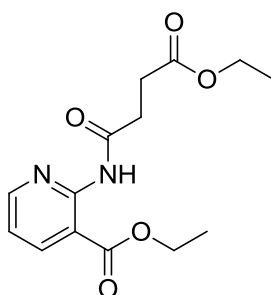
2-Aminopyridin-3-carbonsäure (**26**, 2.00 g, 14.0 mmol) wurde in DMF (56 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von Kaliumcarbonat (2.50 g, 28.0 mmol) wurde die Suspension für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus Iodethan (2.20 g, 14.0 mmol, 1.10 mL) in DMF (14 mL) langsam zur Suspension zugetropft. Nach Rühren bei Raumtemperatur für 1 h wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser (ca. 300 mL) gegeben. Die dabei ausgefallenen Kristalle wurden abfiltriert und die wässrige Phase mit Ethylacetat (4 x 75 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Der verbliebene Rückstand wurde in Diethylether (100 mL) aufgenommen und mit einer 30% Lithiumchloridlösung (4 x 25 mL) ausgeschüttelt. Die etherische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Die so erhaltenen Kristalle

wurden mit den ausgefallenen Kristallen vereinigt und aus Ethanol umkristallisiert. Es wurden 1.90 g (80.8%) farblose Kristalle erhalten.

Daten nach Methode A und B:

Schmp.: 93 – 94 °C (Lit.: 94 - 96 °C¹⁴³); IR (KBr): 3428 (NH₂), 1695 (C=O), 1625 (NH₂), 1245, 770 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ = 8.22 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.9 Hz), 8.15 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.9 Hz), 6.63 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz), 4.35 (q, 2H, ³J_{H,H} = 7.1 Hz), 1.39 (t, 3H, ³J_{H,H} = 7.1 Hz); ¹³C-NMR (150.9 MHz, CDCl₃): δ = 167.0, 159.4, 106.5 (quart. C); 153.5, 140.1, 112.7 (tert. C); 60.9 (sek. C); 14.3 (prim. C); C₈H₁₀N₂O₂ (166.18); ber. C 57.82, H 6.07, N 16.86; gef. C 57.68, H 6.22, N 17.20.

2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylester (28)



Methode A:

2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylester (**27**, 1.00 g, 6.50 mmol) wurde in Methylenchlorid (50 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von DMAP (16.0 mg, 1.30 mmol) und DIPEA (0.97 g, 7.5 mmol, 1.3 mL) wurde eine Lösung von Bernsteinsäureethylesterchlorid (1.23 g, 7.50 mmol, 1.10 mL) in Methylenchlorid (5 mL) langsam bei Raumtemperatur zugetropft. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wurde destilliertes Wasser (50 mL) hinzugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit gesättigter NaCl-Lösung und destilliertem Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck destilliert. Das Produkt wurde als eine gelbbräunliche, viskose Flüssigkeit (2.05 g) erhalten, die ohne weitere Reinigung umgesetzt wurde.

Methode B:

2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylester (**27**, 1.50 g, 8.90 mmol) wurde mit Calciumcarbonat (1.80 g, 18.0 mmol) in Toluol (10 mL) vorgelegt. Bernsteinsäureethylesterchlorid (1.50 g, 8.90 mmol, 1.20 mL), gelöst in Toluol (9 mL), wurde langsam zum Reaktionsgemisch zugetropft. Nach fünfstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Calciumcarbonat abfiltriert und das Lösungsmittel des Filtrats unter vermindertem Druck abdestilliert. Die so erhaltene gelbbraunliche, viskose Flüssigkeit (2.44 g) wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Methode C:

2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylester (**27**, 1.00 g, 6.00 mmol) wurde in THF (20 mL) vorgelegt. Nach Zugabe von Pyridin (0.50 g, 6.2 mmol, 0.50 mL) wurde Bernsteinsäureethylesterchlorid (1.80 g, 11.0 mmol, 1.50 mL) langsam hinzuge tropft. Nach zweistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde destilliertes Wasser (40 mL) hinzugefügt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Ethylacetat (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das erhaltene Produkt (1.24 g), welches als viskose Flüssigkeit vorlag, wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Daten nach Methoden A, B und C:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ = 10.94 (s, 1H), 8.57 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.4 Hz), 8.33 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz), 7.09 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.4 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.0 Hz), 4.40 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.1 Hz), 4.16 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.9 Hz), 2.98 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.8 Hz), 2.75 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.8 Hz), 1.41 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.2 Hz), 1.26 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.1 Hz).

Methode D:

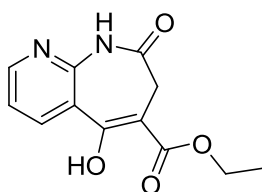
2-Aminopyridin-3-carbonsäureethylester (**27**, 1.00 g, 6.00 mmol) und *N,N*-Dimethylanilin (1.10 g, 9.00 mmol, 1.10 mL) wurden in THF (10 mL) vorgelegt und auf 0 – 5 °C gekühlt. Eine Lösung von Bernsteinsäureethylesterchlorid (1.0 g, 6.0 mmol, 0.80 mL) in THF (5 mL) wurde über einen Zeitraum von 10 min langsam zum Reaktionsgemisch hinzuge tropft. Die resultierende Lösung wurde anschließend 1 h zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck

abdestilliert. Anschließend wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (PE:EE 95:5 – 1:1). Das Produkt (458 mg, 26.0%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Daten nach Methode D:

Schmp.: 47 – 49 °C; IR (KBr): 3259 (NH), 1736 (CONH), 1171, 779 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.94 (s, 1H), 8.57 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.4 Hz), 8.33 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz), 7.09 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.4 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.0 Hz), 4.40 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.1 Hz), 4.16 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.9 Hz), 2.98 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.8 Hz), 2.75 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.8 Hz), 1.41 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.2 Hz), 1.26 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.1 Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (150.9 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.7 (2C), 166.5, 152.3, 111.3 (quart. C); 152.7, 139.9, 118.0 (tert. C); 60.9, 60.6, 33.1, 29.1 (sek. C); 14.1 (2C, prim. C); $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$ (294.30); ber. C 57.13, H 6.16, N 9.52; gef. C 57.41, H 6.28, N 9.31.

5-Hydroxy-8-oxo-8,9-dihydro-7H-pyrido[2,3-*b*]azepin-6-carbonsäureethylester (29)



Methode A:

Kalium-*tert*-butylat (1.60 g, 14.0 mmol) wurde in THF (14 mL) unter Stickstoff-Atmosphäre vorgelegt. 2-[(4-Ethoxy-1,4-dioxobutyl)amino]pyridin-3-carbonsäureethylester (**28**, Rohprodukt, erhalten nach Methode C), gelöst in THF (16 mL), wurde langsam zugetropft und für 5 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde Salzsäure (1 M, 20 mL) zugegeben. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (0.20 g, 16.9% über zwei Stufen) wurde als farbloser, voluminöser Feststoff erhalten.

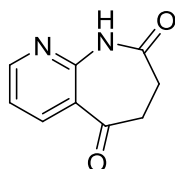
Methode B:

Kalium-*tert*-butylat (10.0 g, 89.0 mmol) wurde in Toluol (27 mL) unter Stickstoff-Atmosphäre vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. 2-[(4-Methoxy-1,4-dioxobutyl)-amino]pyridin-3-carbonsäureethylester (**28**, Rohprodukt, erhalten nach Methode C bei vierfacher Ansatzgröße) wurde in Toluol (53 mL) und DMF (8 mL) gelöst und langsam zur Suspension hinzugegeben. Anschließend wurde auf Raumtemperatur erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 4 h unter Stickstoff-Atmosphäre gerührt. Dann wurde Eisessig (5.3 mL) in Wasser (53 mL) auf die Reaktionslösung gegeben. Der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Petrolether gewaschen. Der Feststoff wurde aus Ethanol umkristallisiert und getrocknet. Das Produkt (1.90 g, 33.4% über zwei Stufen) wurde als voluminöser Feststoff erhalten.

Daten nach Methode A und B:

Schmp.: 207 – 208 °C (Lit.: 211 °C⁸²); IR (KBr): 3204 (NH), 1690 (C=O), 1403, 1193, 764 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.47 (s, 1H), 10.74 (s, 2H), 8.58 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 8.23 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 7.34 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 4.31 (q, 2H, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz), 3.03 (s, 1H), 1.31 (t, 3H, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz); ¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.7, 170.2, 164.3, 149.2, 119.8, 96.1 (quart. C); 151.5, 137.7, 119.3 (tert. C); 61.5, 30.9 (sek. C); 14.0 (prim. C); C₁₂H₁₂N₂O₄ (248.23); ber. C 58.06, H 4.87, N 11.29; gef. C 57.99, H 4.77, N 11.30.

6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**)

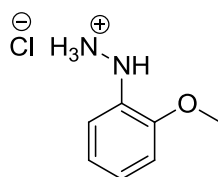


5-Hydroxy-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-6-carbonsäureethylester (**29**, 678 mg, 2.70 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre vorgelegt. Nach Zugabe von DMSO (48.6 mL) und destilliertem Wasser (5.4 mL) wurde das Reaktionsgemisch für 5 - 7 h bei 150 °C unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Lösung abgekühlt

und destilliertes Wasser (54 mL) hinzugefügt. Die ausgefallenen Kristalle wurden abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (412 mg, 86.6%) wurde als beiger, kristalliner Feststoff erhalten.

Schmp.: 218 – 221 °C (Lit.: 221 °C⁸²); IR (KBr): 3433 (NH), 2976 (CH aliph.), 2917 (CH aliph.), 1674 (C=O), 1592 (CONH), 767 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.40 (s, 1H), 8.56 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 8.26 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 7.26 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz), 3.08 – 2.85 (m, 2H), 2.85 – 2.63 (m, 2H); ¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 197.2, 172.8, 150.78, 120.9 (quart. C); 153.1, 139.8, 119.2 (tert. C); 37.1, 29.3 (sek. C); C₉H₈N₂O₂ (176.17); ber. C 61.36, H 4.58, N 15.90; gef. C 60.70, H 4.43, N 15.87.

2-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (38g)



Methode A ⁹⁸:

2-Methoxyanilin (**40**, 2.00 g, 16.0 mmol, 1.80 mL) wurde in konz. Salzsäure (16 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. In Wasser (14 mL) gelöstes Natriumnitrit (1.1 g, 16 mmol) wurde langsam zur Suspension getropft und die Reaktionslösung wurde für 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde der Niederschlag filtriert und zur Lösung wurde Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (12.4 g, 49.0 mmol) gelöst in konz. Salzsäure (28 mL) getropft. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit gesättigter Natriumchloridlösung und einem Gemisch von Petrolether/*tert*-Butylmethylether (2:1) gewaschen. Der Feststoff wurde in Wasser aufgenommen und mit 50% Natriumhydroxidlösung versetzt, bis die Lösung leicht basisch war und dann mit *tert*-Butylmethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden unter Kühlung mit gasförmigen Chlorwasserstoff gesättigt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

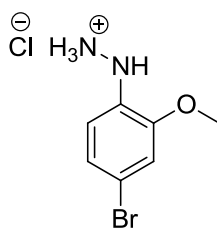
Methode B⁹²:

2-Methoxyanilin (**40**, 6.10 g, 50.0 mmol, 5.60 mL) wurde in 20% Salzsäure (100 mL) vorgelegt und im Eisbad gekühlt. Natriumnitrit (7.30 g, 105 mmol) wurde in Wasser (16 mL) gelöst und langsam zugetropft. Dabei sollte die Temperatur der Reaktionslösung 5 °C nicht übersteigen. Es wurde für 1 h weiter bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (54.2 g, 200 mmol) in Salzsäure (konz., 60 mL) gelöst und unter Beachtung der Temperatur langsam zur Reaktionslösung getropft. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit konz. Salzsäure gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Daten nach Methode A und B:

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.15 (s, 3H), 7.54 (s, 1H), 7.09 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.02 – 6.85 (*m*, 3H), 3.82 (s, 3H); ¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 147.8, 134.1 (quart. C); 122.5, 120.6, 114.5, 111.0 (tert. C); 55.7 (prim. C); C₇H₁₁ClN₂O (174.63).

4-Brom-2-methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38h**)

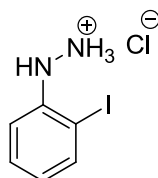


4-Brom-2-methoxyanilin (**46**, 6.20 g, 30.0 mmol) wurde in konz. Salzsäure (30 mL) suspendiert und auf -15 °C gekühlt. Eine wässrige Lösung von Natriumnitrit (2.10 g, in 27 mL H₂O, 30.0 mmol) wurde langsam unter Beibehaltung der Temperatur zur Suspension getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Lösung für 30 min bei -15 °C gerührt. Danach wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert und zum Filtrat wurde eine vorgekühlte Lösung von Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (21.0 g, 92.0 mmol) in konz. Salzsäure (54.0 mL) langsam zugetropft bei einer Reaktionstemperatur von -15 °C. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit

gesättigter Natriumchloridlösung und einem Gemisch von Petrolether/*tert*-Butylmethylether (2:1) gewaschen. Anschließend wurde der Niederschlag in Wasser (20 mL) aufgenommen und unter Kühlung mit 50% Natriumhydroxidlösung versetzt, bis die Lösung leicht basisch war. Dann erfolgte eine Extraktion mit *tert*-Butylmethylether (4 x 25 mL) und die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Chlorwasserstoffgas unter Kühlung gesättigt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Das Produkt (4.4 g, 57%) wurde als rosafarbener Feststoff erhalten.

Schmp.: 168 - 170 °C (Lit.: 179 – 180 °C⁹⁸); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.17 (s, 3H), 7.71 (s, 1H), 7.16 (d, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz), 7.11 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2.0 Hz), 7.01 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz), 3.85 (s, 3H); ¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 148.5, 133.8, 113.3 (quart. C); 123.0, 115.6, 113.9 (tert. C), 56.1 (prim. C); C₇H₁₀BrClN₂O (253.52); ber. C 33.16, H 3.98, N 11.05; gef. C 32.97, H 4.52, N 10.98.

2-Iodphenylhydrazin-Hydrochlorid (38q) ¹⁰⁵

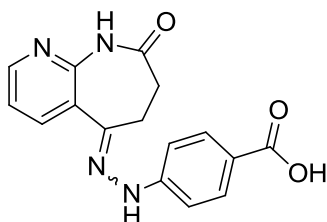


Ein Gemisch aus Wasser (5.12 mL) und konz. Salzsäure (11.5 mL) wurden auf 0 °C gekühlt. Unter starkem Rühren wurde portionsweise 2-Iodanilin (**53**, 10.0 g, 45.7 mmol) zugegeben. Anschließend wurde die Lösung auf -5 °C gekühlt und Natriumnitrit (3.50 g, 49.2 mmol) gelöst in Wasser (5.1 mL) langsam zur Reaktionslösung getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung bei 0 °C gehalten und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (23.2 g, 90.0 mmol) gelöst in Salzsäure (6 M, 31.2 mL) langsam zur Reaktionslösung getropft. Nach 24-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung unter starkem Rühren mit 50% wässriger Natriumhydroxidlösung versetzt, bis sie basisch war. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Diethylether (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser (100 mL) und gesättigter

Natriumchloridlösung (100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 50 mL reduziert, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Unter Rühren und unter Eiskühlung wurde Chlorwasserstoffgas eingeleitet. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit Diethylether gewaschen. Das Produkt (4.00 g, 32.4%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Schmp.: 163 – 167 °C (Lit: 157 – 159 °C¹⁴⁴); IR (KBr): 3434, 3231, 2900, 2759, 2678, 1494, 741 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.33 (s, 3H), 7.79 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 7.38 (ddd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.2 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 7.02 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 6.77 (ddd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.3 Hz); ¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 144.9, 85.1 (quart. C); 139.2, 128.9, 123.6, 114.1 (tert. C); C₆H₈ClIN₂ (270.50); ber. C 26.64, H 2.98, N 10.36; gef. C 26.96, H 2.76, N 9.84; MS (EI): *m/z* = 234 ([M]⁺, 100), 219 ([M – NH]⁺, 26), 204 ([M – N₂H₂]⁺, 24).

4-[2-(8-Oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5-yliden)hydrazinyl]benzoesäure (**39c**)

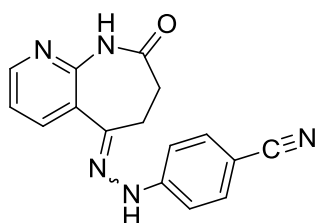


6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol) und 4-Hydrazinobenzoessäure (**38c**, 259 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (269 mg, 76.8%) wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

Schmp.: 279 - 283 °C; IR (KBr): 3182 (NH), 1683 (C=O), 1602 (C=O), 1260, 1143 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.07 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.37 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 8.11 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 7.82

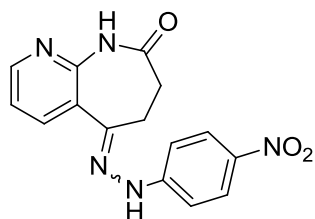
(*d*, 2H, $^3J_{H,H} = 8.9$ Hz), 7.33 – 7.12 (*m*, 3H), 3.02 (*dd*, 2H, $^3J_{H,H} = 7.6$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.4$ Hz), 2.61 (*dd*, 2H, $^3J_{H,H} = 7.8$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.3$ Hz); ^{13}C -NMR (100.6 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172.7, 172.1, 167.5, 149.6, 148.7, 143.4, 125.6$ (quart. C); 148.3, 138.4, 130.8 (2C), 120.0, 112.2 (2C) (tert. C); 31.1, 29.0 (sek. C); $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$ (310.31); HPLC: 98.0% bei 254 nm, 98.5% bei 280 nm, $t_N = 2.3$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/H₂O; 30:70), $\lambda_{\text{max}} = 333, 347, 364$ nm.

4-[2-(8-Oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5-yliden)hydrazinyl]benzonitril
(**39d**)



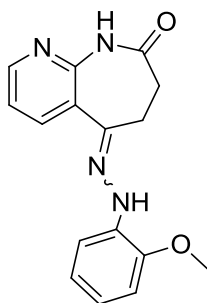
6,7,8,9-Tetrahydro-5*H*-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 4-Hydrazinobenzonitril (**38d**, 288 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (204 mg, 62.6%) wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

Zers.: ab 245 °C; IR (KBr): 3267 (NH), 2209 (CN), 1603 (C=O), 1269, 831 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 10.09$ (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.38 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 4.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.8$ Hz), 8.10 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 7.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.9$ Hz), 7.75 – 7.53 (*m*, 2H), 7.38 – 7.27 (*m*, 2H), 7.22 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 7.7$ Hz, $^3J_{H,H} = 4.7$ Hz), 3.17 – 2.87 (*m*, 2H), 2.76 – 2.54 (*m*, 2H); ^{13}C -NMR (100.6 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172.6, 149.7, 148.9, 144.8, 125.4, 119.9, 100.3$ (quart. C); 148.5, 138.5, 133.4 (2C), 120.0, 117.2 (2C) (tert. C); 31.0, 29.1 (sek. C); $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$ (291.31); HPLC: 95.9% bei 254 nm, 95.1% bei 280 nm, $t_N = 6.7$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/H₂O; 30:70), $\lambda_{\text{max}} = 332, 357, 358$ nm.

5-[2-(4-Nitrophenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39e**)

6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol) und 4-Nitrophenylhydrazin (**38e**, 260 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10.0 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 6 h wurde die Reaktion mit 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (333 mg, 94.9%) wurde als grauer Feststoff erhalten.

Zers.: ab 215 °C; IR (KBr): 3614, 3243 (NH), 2220, 1686 (C=O), 1592, 1325, 1111, 848 cm⁻¹; C₁₅H₁₃N₅O₃ (311.30); MS (EI): *m/z* = 311 ([M]⁺, 76), 310 ([M-H]⁺, 100); HPLC: 95.4% bei 254 nm, 87.8% bei 280 nm, *t_N* = 4.2 min, *t_M* = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 234, 295, 385 nm.

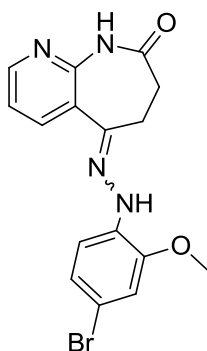
5-[2-(2-Methoxyphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39g**)

6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38g**, 297 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL)

vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (279 mg, 83.5%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Schmp.: 237 - 241 °C; IR (KBr): 3390 (NH), 2908 (CH aliph.), 1685 (C=O), 1552, 1254, 749 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.07 (s, 1H), 8.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 8.12 (s, 1H), 8.11 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$ Hz), 7.37 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz), 7.22 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz), 6.98 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz), 6.89 (td, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz), 6.83 (td, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz), 3.86 (s, 3H), 3.17 – 2.95 (m, 2H), 2.69 – 2.54 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.6, 149.5, 145.7, 143.5, 134.0, 125.6 (quart. C); 148.1, 138.2, 120.9, 119.9 (2C), 112.4, 110.7 (tert. C); 30.9, 27.8 (sek. C); 55.5 (prim. C); $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2$ (296.32); HPLC: 96.5% bei 254 nm, 95.5% bei 280 nm, $t_{\text{N}} = 4.7$ min, $t_{\text{M}} = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 50:50), $\lambda_{\text{max}} = 240, 334, 345$ nm.

5-[2-(4-Brom-2-methoxyphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (39h)

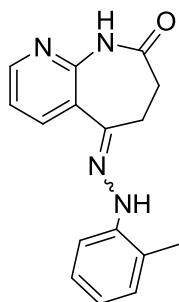


6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 4-Brom-2-methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38h**, 430 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach vierstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde

abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (663 mg, 62.2%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.07 (s, 1H), 8.37 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 8.17 (s, 1H), 8.10 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 7.29 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.5$ Hz), 7.22 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz), 7.15 (d, 1H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 7.06 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz), 3.88 (s, 3H), 3.11 – 3.01 (m, 2H), 2.61 – 2.57 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.5, 149.5, 146.5, 144.7, 133.7, 125.4, 110.8 (quart. C); 148.3, 138.2, 123.5, 119.9, 113.8, 113.7 (tert. C); 30.9, 27.9 (sek. C); 56.0 (prim C); $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}_2$ (375.22); HPLC: 92.9% bei 254 nm, 91.3% bei 280 nm, $t_{\text{N}} = 11.4$ min, $t_{\text{M}} = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 40:60), $\lambda_{\text{max}} = 345$ nm.

5-[2-(2-Methylphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39i**)

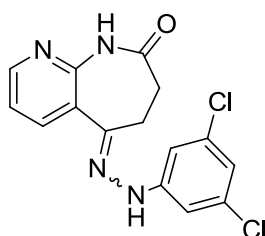


6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Methylphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38i**, 270 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach zweistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (163 mg, 54.9%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Schmp.: 242 – 244 °C; IR (KBr): 3051 (NH), 2897 (CH aliphat.), 1695 (C=O), 1591, 1150, 743 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.11 (s, 1H), 8.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.9$ Hz), 8.10 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.9$ Hz), 7.98 (s, 1H), 7.41 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, $^5J_{\text{H,H}} = 0.9$ Hz), 7.23 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} =$

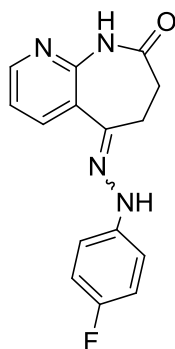
4.7 Hz), 7.17 – 7.04 (*m*, 2H), 6.79 (*td*, 1H, $^3J_{H,H} = 7.8$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.2$ Hz), 3.13 (*dd*, 2H, $^3J_{H,H} = 7.4$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.7$ Hz), 2.61 (*dd*, 2H, $^3J_{H,H} = 7.1$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.8$ Hz), 2.27 (*s*, 3H); ^{13}C -NMR (100.6 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172.7, 149.5, 143.5, 143.0, 125.8, 122.5$ (quart. C); 148.1, 138.2, 130.2, 126.5, 120.0, 120.0, 113.3 (tert. C); 31.1, 28.0 (sek. C); 16.9 (prim. C); $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ (280.32); HPLC: 99.0% bei 254 nm, 98.7% bei 280 nm, $t_N = 5.9$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 40:60), $\lambda_{\text{max}} = 236, 334, 345$ nm.

5-[2-(3,5-Dichlorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-*b*]azepin-8(9H)-on
(**39j**)



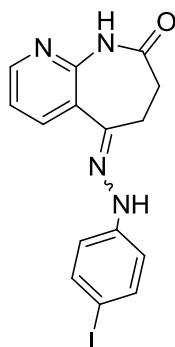
6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-*b*]azepin-5,8-dion (**30**, 0.20 g, 1.1 mmol), (3,5-Dichlorphenyl)hydrazin-Hydrochlorid (**38j**, 0.27 g, 1.2 mmol) und Natriumacetat (0.10 g, 1.2 mmol) wurden in Eisessig (10 mL) suspendiert und auf 70 °C erwärmt. Nach 2 h wurde konz. Schwefelsäure (0.1 mL) zugegeben und weiter für 1 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) gegeben. Der Niederschlag wurde abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (160 mg, 42.3%) wurde als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

Zers.: ab 270 °C; ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 10.09$ (*s*, 1H), 9.71 (*s*, 1H), 8.38 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 4.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.8$ Hz), 8.10 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 7.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.8$ Hz), 7.24 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 7.7$ Hz, $^3J_{H,H} = 4.7$ Hz), 7.18 (*d*, 2H, $^4J_{H,H} = 1.9$ Hz), 6.93 (*t*, 1H, $^4J_{H,H} = 1.9$ Hz), 2.99 – 2.95 (*m*, 2H), 2.63 – 2.58 (*m*, 2H); ^{13}C -NMR (150.9 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172.6, 149.6, 147.7, 144.3, 134.4$ (2C), 125.4 (quart. C); 148.5, 138.5, 120.1 (2C), 118.2, 111.2 (tert. C); 31.0, 29.1 (sek. C); $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ (335.19); HPLC: 98.5% bei 254 nm, 97.9% bei 280 nm, $t_N = 6.2$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 50:50), $\lambda_{\text{max}} = 308, 331$ nm.

5-[2-(4-Fluorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39k**)

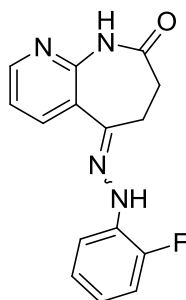
6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 4-Fluorphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38k**, 277 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 7 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (150 mg, 46.7%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Schmp.: 262 - 266 °C; IR (KBr): 3433 (NH), 1685 (C=O), 1560, 1505, 822 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.03 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.9 Hz), 8.08 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.9 Hz), 7.24 – 7.16 (m, 3H), 7.11 – 7.01 (m, 2H), 3.06 – 2.91 (m, 2H), 2.66 – 2.54 (m, 2H); C₁₅H₁₃FN₄O (284.29); HPLC: 96.8% bei 254 nm, 96.1% bei 280 nm, t_N = 5.0 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 240, 307, 333 nm.

5-[2-(4-Iodphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39m**)

6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol) und 4-Iodphenylhydrazin (**38m**, 398 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde konz. Schwefelsäure (0.4 mL) zugegeben. Nach weiteren 2 h bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt und für weitere 2 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (396 mg, 89.4%) wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

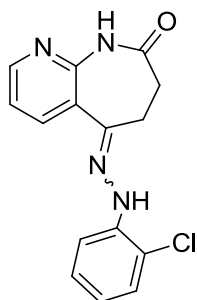
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.07 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.35 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.9 Hz), 8.07 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 7.56 – 7.48 (m, 2H), 7.21 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 7.08 – 7.01 (m, 2H), 3.05 – 2.94 (m, 2H), 2.64 – 2.55 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.7, 149.5, 145.2, 142.1, 125.7 (quart. C); 148.1, 138.2, 137.2 (2C), 120.0, 115.5 (2C), 81.4 (tert. C); 31.0, 28.9 (sek. C); $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{IN}_4\text{O}$ (392.19); HPLC: 96.5% bei 254 nm, 95.5% bei 280 nm, t_{N} = 4.7 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 50:50), λ_{max} = 253, 336, 344 nm.

5-[2-(2-Fluorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39n**)

6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Fluorphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38n**, 277 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 7 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (150 mg, 46.7%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

Schmp.: 221 – 234 °C; IR (KBr): 3077 (NH), 2902, 1685 (C=O), 1620, 1373, 745 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.06 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.37 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 8.12 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 7.50 (*td*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.7 Hz), 7.22 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 7.17 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,F} = 12.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 8.1 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 7.13 – 7.07 (*m*, 1H), 6.93 – 6.79 (*m*, 1H), 3.18 – 3.06 (*m*, 2H), 2.65 – 2.54 (*m*, 2H); C₁₅H₁₃FN₄O (284.29); HPLC: 98.5% bei 254 nm, 98.5% bei 280 nm, *t*_N = 5.1 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 243, 307, 319 nm.

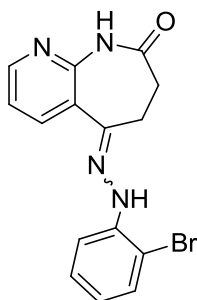
5-[2-(2-Chlorphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39o**)



6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Chlorphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38o**, 304 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1 h wurde konz. Schwefelsäure (0.2 mL) zugegeben, die Zugabe wurde halbstündlich wiederholt bis zur vollständigen Umsetzung. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (252 mg, 78.7%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

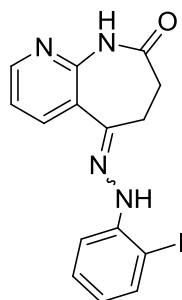
Schmp.: 252 - 255 °C; IR (KBr): 3430 (NH), 1698 (C=O), 1596, 1372, 1147, 739 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.11 (s, 1H), 8.39 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.8 Hz), 8.26 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.8 Hz), 8.13 (s, 1H), 7.54 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.5 Hz), 7.39 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, ³J_{H,H} = 1.4 Hz), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 7.24 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz), 6.89 (ddd, 1H, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.6 Hz), 3.14 (dd, 2H, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, ³J_{H,H} = 5.7 Hz), 2.61 (dd, 2H, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, ³J_{H,H} = 6.1 Hz); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 172.5, 149.8, 146.2, 141.0, 125.3, 117.9 (quart. C); 148.9, 138.4, 129.2, 128.0, 121.1, 120.0, 114.9 (tert. C); 31.0, 27.5 (sek. C); C₁₅H₁₃ClN₄O (300.74); HPLC: 99.5% bei 254 nm, 99.4% bei 280 nm, t_N = 5.2 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 45:55), λ_{max} = 235, 323 nm.

5-[2-(2-Bromphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39p**)



6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Bromphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38p**, 380 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1 h wurde konz. Schwefelsäure (0.2 mL) zugegeben, die Zugabe wurde halbstündlich wiederholt bis zur vollständigen Umsetzung. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (284 mg, 76.7%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

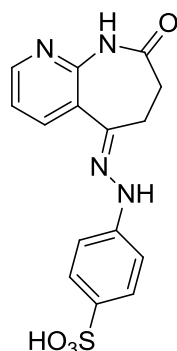
Schmp.: 252 – 255 °C; IR (KBr): 3434 (NH), 1697 (C=O), 1371, 739 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.11 (s, 1H), 8.39 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz), 8.18 (s, 1H), 8.12 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.9$ Hz), 7.55 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.4$ Hz), 7.52 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 1.5$ Hz), 7.34 – 7.29 (m, 1H), 7.24 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz), 6.83 (ddd, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz), 3.18 – 3.08 (m, 2H), 2.67 – 2.57 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.5, 148.8, 145.9, 141.8, 125.2, 108.0 (quart. C); 148.6, 138.4, 132.3, 128.6, 121.7, 119.9, 115.1 (tert. C); 30.9, 27.9 (sek. C); $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrN}_4\text{O}$ (345.19); HPLC: 98.9% bei 254 nm, 99.1% bei 280 nm, $t_{\text{N}} = 5.9$ min, $t_{\text{M}} = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 45:55), $\lambda_{\text{max}} = 234, 320$ nm.

5-[2-(2-Iodphenyl)hydrazono]-6,7-dihydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-8(9H)-on (**39q**)

6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol), 2-Iodphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38q**, 460 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 h wurde konz. Schwefelsäure (0.4 mL) zugegeben. Nach weiteren 2 h bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt und für 2 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (295 mg, 66.6%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Schmp.: 253 – 254 °C; IR (KBr): 3433, 3048 (NH), 2893, 1688 (C=O), 1589, 1452, 741 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.12 (s, 1H), 8.39 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.9 Hz), 8.11 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.8 Hz), 7.94 (s, 1H), 7.75 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 7.43 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 7.36 – 7.28 (*m*, 1H), 7.23 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.7 Hz), 6.70 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 3.10 (*dd*, 2H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.6 Hz), 2.68 – 2.61 (*m*, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 172.4, 148.9, 145.2, 144.7, 125.2, 84.1 (quart. C); 148.5, 138.6, 138.4, 129.2, 122.3, 119.9, 114.7 (tert. C); 30.9, 28.0 (sek. C); C₁₅H₁₃IN₄O (392.19); HPLC: 99.3% bei 254 nm, 99.5% bei 280 nm, *t*_N = 13.1 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 327 nm.

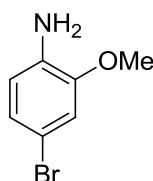
4-[2-(8-Oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5-yliden)hydrazinyl]benzolsulfonsäure (**39u**)



6,7,8,9-Tetrahydro-5H-pyrido[2,3-b]azepin-5,8-dion (**30**, 200 mg, 1.13 mmol) und 4-Hydrazinobenzolsulfonsäure (**38u**, 320 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 7 h wurde das Reaktionsgemisch auf 70 °C erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 2 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde 5% wässrige Natriumacetatlösung (40 mL) zugegeben. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Das Produkt (56.0 mg, 14.3%) wurde als orange, halbfeste Masse erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 10.03 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 8.11 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.8 Hz), 7.46 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.6 Hz), 7.22 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.7 Hz), 7.12 (d, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.7 Hz), 2.99 (dd, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.6 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.4 Hz), 2.59 (dd, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.3 Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.7, 149.5, 145.4, 141.5, 140.0, 125.9 (quart. C); 147.9, 138.3, 126.5 (2C), 120.0, 111.7 (2C) (tert. C); 31.2, 28.8 (sek. C); $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ (346.36); MS (ESI): m/z = 391 ($[\text{M}+2\text{Na}]^+$, 100).

4-Brom-2-methoxyanilin (**46**)



Methode A:

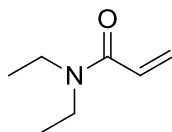
O-Anisidin (**40**, 5.00 g, 40.0 mmol, 4.60 mL) wurde in Tetrachlorkohlenstoff (81 mL) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung von Brom (6.50 g, 41.0 mmol, 2.10 mL) in Tetrachlorkohlenstoff (41 mL) wurde über einen Zeitraum von 3 h langsam zur gekühlten Reaktionslösung zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für 1 h bei dieser Temperatur weiter gerührt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und mit destilliertem Wasser gewaschen. Anschließend wurde der zerkleinerte Rückstand mit einer Kaliumcarbonatlösung behandelt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und weitestgehend vom violetten Rückstand getrennt. Der Niederschlag wurde aus Petrolether umkristallisiert. Der violette Rückstand wurde mit Petrolether „ausgekocht“ bis keine weiteren farblosen Kristalle entstanden. Das Produkt (1.49 g, 18.1%) wurde als farbloser bis leicht rosafarbener, kristalliner Feststoff erhalten.

Methode B:

O-Anisidin (**40**, 0.10 g, 1.0 mmol) wurde in Methylenchlorid (5 mL) vorgelegt und eine Lösung von Kaliumbromid (0.14 g, 1.2 mmol) und Iodsäureanhydrid (0.21 g, 0.63 mmol) in destilliertem Wasser (5 mL) wurde hinzugeben. Nach 40-minütigem Rühren bei Raumtemperatur wurde eine 10% wässrige Natriumthiosulfatlösung (25 mL) zugegeben. Anschließend wurden die Phasen getrennt und es erfolgte eine Extraktion der wässrigen Phasen mit Methylenchlorid (3 x 15 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde das Produkt (30.0 mg, 14.8%) als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.

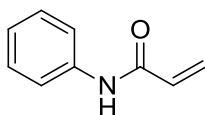
Daten nach Methode A und B:

Schmp.: 54 – 55 °C (Lit.: 61 °C); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 6.90 (*d*, 1H, $^4J_{\text{H,H}}$ = 2.2 Hz), 6.82 (*dd*, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.3 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 2.2 Hz), 6.56 (*d*, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.3 Hz), 4.87 (*s*, 2H), 3.76 (*s*, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150.9 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 147.0, 137.1, 106.0 (quart. C); 123.2, 114.6, 113.3 (tert. C); 55.5 (prim C); $\text{C}_7\text{H}_8\text{BrNO}$ (202.05).

N,N-Diethylacrylamid (**55a**)¹¹⁴

N,N-Diethylamin (1.97 g, 27.0 mmol, 2.78 mL) und Triethylamin (6.00 g, 59.0 mmol, 8.23 mL) wurden in Methylenchlorid (75 mL) bei Raumtemperatur für 10 min gerührt. Acryloylchlorid (2.98 g, 33.0 mmol, 2.66 ml) wurde unter Kühlung und Temperaturkontrolle langsam zur Reaktionslösung getropft. Nach vollständiger Zugabe des Acryloylchlorids wurde die Reaktion durch Zugabe von Eiswasser (200 mL) beendet. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Methylenchlorid (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (3 M, 3 x 40 mL), Wasser (2 x 50 mL), Natriumhydroxidlösung (2 M, 3 x 30 mL) und nochmal mit Wasser (2 x 50 mL) gewaschen. Danach wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Produkt (2.35 g, 68.5%) wurde als eine gelbliche, viskose Flüssigkeit erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 6.70 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 16.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 10.4 Hz), 6.12 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 16.6 Hz, ²*J*_{H,H} = 2.6 Hz), 5.64 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 10.4 Hz, ²*J*_{H,H} = 2.6 Hz), 3.38 (*q*, 2H, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz), 3.33 (*q*, 2H, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz), 1.10 (*t*, 3H, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz), 1.04 (*t*, 3H, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz); C₇H₁₃NO (127.18).

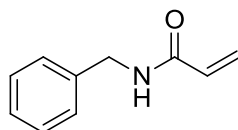
N-Phenylacrylamid (**55b**)¹¹⁵

Anilin (756 mg, 8.12 mmol, 0.74 mL) und Kaliumcarbonat (1.22 g, 8.12 mmol) wurden in Aceton (2.5 mL) und Wasser (2.5 mL) vorgelegt und auf 5 °C gekühlt. Acryloylchlorid (740 mg, 8.12 mmol, 0.65 ml) wurde langsam zur Reaktionslösung

getropft. Nach vollständiger Zugabe des Acryloylchlorids wurde der Ansatz auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck zur Hälfte abdestilliert. Der Rückstand wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Produkt (1.03 g, 86.6%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Schmp.: 97 – 98 °C (Lit.: 104 – 106 °C¹¹⁵); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.16 (s, 1H), 7.59 (d, 2H, ³J_{H,H} = 7.9 Hz), 7.38 – 7.20 (m, 2H), 7.10 (t, 1H, ³J_{H,H} = 7.4 Hz), 6.40 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 16.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz), 6.30 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 16.9 Hz, ³J_{H,H} = 9.9 Hz), 5.70 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz); ¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-d₆): δ = 164.0, 137.8 (quart. C); 131.3, 128.9 (2C), 127.6, 124.5, 120.3 (tert. C); 128.9 (sek. C); C₉H₉NO (147.17).

N-Benzylacrylamid (55c) ¹¹⁴

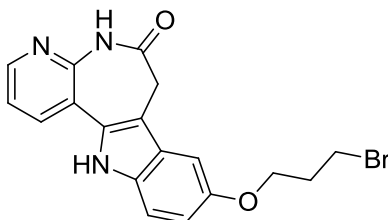


Benzylamin (2.89 g, 27.0 mmol, 2.94 mL) und Triethylamin (6.00 g, 59.0 mmol, 8.23 mL) wurden in Methylenchlorid (75 mL) bei Raumtemperatur vorgelegt und für 10 min gerührt. Acryloylchlorid (2.98 g, 33.0 mmol, 2.66 ml) wurde unter Kühlung und Temperaturkontrolle langsam zur Reaktionslösung getropft. Nach vollständiger Zugabe des Acryloylchlorids wurde die Reaktion durch Zugabe von Eiswasser (200 mL) beendet. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Methylenchlorid (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Salzsäure (3 M, 3 x 40 mL), Wasser (2 x 50 mL), Natriumhydroxidlösung (2 M, 3 x 30 mL) und nochmals mit Wasser (2 x 50 mL) gewaschen. Danach wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Produkt (3.85 g, 88.5%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.35 - 7.22 (m, 5H), 6.29 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 17.0 Hz, ²J_{H,H} = 1.6 Hz), 6.27 (s (breit), 1H), 6.12 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 17.0 Hz, ³J_{H,H} = 10.2 Hz),

5.63 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 10.2$ Hz, $^2J_{H,H} = 1.6$ Hz), 4.47 (*d*, 1H, $^3J_{H,H} = 5.8$ Hz); ^{13}C -NMR (150.9 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 165.5$, 138.0 (quart. C); 130.7, 128.6 (2C), 127.9, 127.5, 126.7 (tert. C); 127.9, 43.6 (sek. C); $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}$ (161.20).

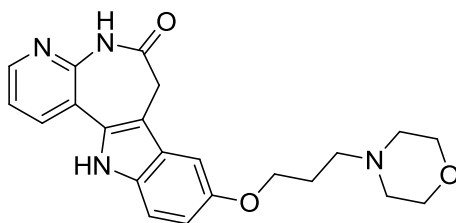
9-(3-Brompropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (61)



9-Hydroxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21v**, 321 mg, 1.21 mmol) und Kaliumcarbonat (334 mg, 2.42 mmol) wurden in Aceton (20 mL) für 30 min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde 1,3-Dibrompropan (**60**, 2.44 g, 12.1 mmol, 1.23 mL) hinzugefügt und weiter für 5 d zum Rückfluss erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Reaktionslösung mit Wasser (50 mL) verdünnt und mit Ethylacetat (3 x 75 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck wurde das Lösungsmittel abdestilliert. Das Produkt (8.0 mg, 1.7%) wurde mittels säulenchromatographischer Reinigung (EE:Hex = 1:1) als hellbrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 218 °C; IR (KBr): 3417, 3267 (NH), 1649 (C=O), 1371 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11.55$ (s, 1H), 10.32 (s, 1H), 8.41 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 4.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.8$ Hz), 8.13 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 7.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.8$ Hz), 7.40 – 7.29 (*m*, 2H), 7.26 (*d*, 1H, $^3J_{H,H} = 2.5$ Hz), 6.86 (*dd*, 1H, $^3J_{H,H} = 8.8$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.4$ Hz), 4.14 (*t*, 2H, $^3J_{H,H} = 6.0$ Hz), 3.72 (*t*, 2H, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz), 3.66 – 3.58 (*m*, 2H), 2.34 – 2.22 (*m*, 2H); ^{13}C -NMR (100.6 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 171.5$, 152.6, 147.4, 133.1, 130.2, 126.8, 117.9, 107.7 (quart. C); 147.3, 135.3, 119.2, 113.5, 112.3, 100.9 (tert. C); 65.8, 32.1, 31.8, 31.5 (sek. C); $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrN}_3\text{O}_2$ (386.24); MS (EI): $m/z = 385$ ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 100), 305 ($[\text{M}-\text{Br}]^+$, 81), 276 (35), 264 (71), 236 (80); HRMS (EI): m/z ($[\text{M}]^{+\bullet}$) ber. 385.04204, gef. 385.04223; HPLC: 88.9% bei 254 nm, 89.5% bei 280 nm, $t_N = 8.2$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/ H_2O ; 40:60), $\lambda_{\text{max}} = 325$ nm.

9-(3-Morpholinopropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on
(63)



Methode A:

9-(3-Brompropoxy)-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**61**, 101 mg, 0.260 mmol) wurde mit Morpholin (**62**, 50 mg, 0.57 mmol) in DMF (5 mL) in einem Mikrowellenreaktionsgefäß vorgelegt und für 10 min bei 180 °C mit einem Maximaldruck von 150 PSI und 100 Watt umgesetzt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf Wasser (20 mL) gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Eine Isolierung des Produkts gelang nicht.

Methode B:

9-Hydroxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21v**, 265 mg, 1.00 mmol) wurde mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholin (**64**, 220 mg, 1.10 mmol) und Kaliumcarbonat (207 mg, 1.50 mmol) in DMF (10 mL) vorgelegt und auf 150 °C erhitzt. Nach 4 h wurde die Reaktion beendet und die Reaktionslösung mit Ethylacetat (4 x 50 mL) extrahiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und es wurde ein schwarzer Feststoff erhalten. Eine Isolierung des Produkts gelang nicht.

Methode C:

9-Hydroxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21v**, 265 mg, 1.00 mmol) wurde mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholin (**64**, 220 mg, 1.10 mmol), Tetrabutylammoniumiodid (22 mg, 0.060 mmol) und Kaliumcarbonat (207 mg, 1.50 mmol) in DMF (10 mL) vorgelegt und auf 150 °C erhitzt. Nach 4 h wurde die Reaktion beendet und die Reaktionslösung mit Ethylacetat (4 x 50 mL) extrahiert.

Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und es wurde ein schwarzer Feststoff erhalten. Eine Isolierung des Produkts gelang nicht.

Methode D:

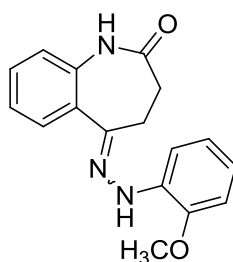
9-Hydroxy-7,12-dihydropyrido[2',3':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**21v**, 265 mg, 1.00 mmol) wurde mit 4-(3-Chlorpropyl)morpholin (**64**, 220 mg, 1.10 mmol), Kaliumiodid (0.6 mg, 0.06 mmol) und Kaliumcarbonat (207 mg, 1.50 mmol) in DMF (10 mL) vorgelegt und auf 130 °C erhitzt. Nach 4 h wurde die Reaktion beendet und die Reaktionslösung mit Ethylacetat (4 x 50 mL) extrahiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck destilliert und es wurde ein schwarzer Feststoff erhalten. Eine Isolierung des Produkts gelang nicht.

Daten nach Methode A:

C₂₂H₂₄N₄O₃ (392.45); MS (EI): m/z = 392 ([M]⁺•, 5), 265 ([**21v**]⁺•, 100), 236 (93).

Die Massenspektren nach Methode B, C und D weisen die gleichen Fragmente auf.

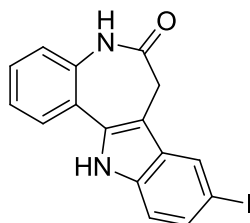
5-[2-(2-Methoxyphenyl)hydrazono]-4,5-dihydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-2(3*H*)-on (**66d**)



3,4-Dihydro-1*H*-1-benzazepin-2,5-dion (**65**, 198 mg, 1.13 mmol), 2-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38g**, 297 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (259 mg, 77.6%) wurde als beiger Feststoff erhalten.

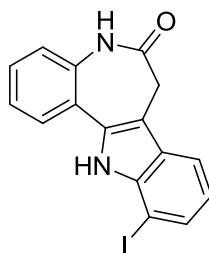
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 9.74 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.40 – 7.24 (m, 2H), 7.16 (td, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.5 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.3 Hz), 7.05 – 6.94 (m, 2H), 6.89 (td, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.6 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.4 Hz), 6.81 (td, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.6 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.7 Hz), 3.86 (s, 3H), 3.12 – 2.94 (m, 2H), 2.57 – 2.51 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 172.9, 145.7, 145.6, 137.1, 134.4, 130.7 (quart. C); 129.5, 129.0, 124.3, 121.8, 121.0, 119.6, 112.4, 110.7 (tert. C); 30.7, 28.6 (sek. C); 55.6 (prim C); $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ (295.34); HPLC: 95.2% bei 254 nm, 96.1% bei 280 nm, t_{N} = 4.3 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 50:50), λ_{max} = 326, 342 nm.

9-Iod-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (67a) ¹⁴⁵



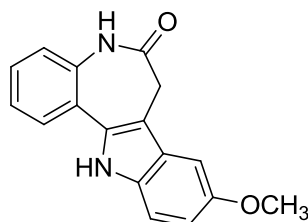
3,4-Dihydro-1*H*-1-benzazepin-2,5-dion (**65**, 198 mg, 1.13 mmol) und 4-Iodphenylhydrazin (**38m**, 398 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (50 mL) vorgelegt und bei 70 °C gerührt. Nach 30 min wurde konz. Schwefelsäure (0.7 mL) zum Reaktionsgemisch gegeben und weiter bei 70 °C gerührt. Nach 2 h wurde der Ansatz abgekühlt und mit 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (391 mg, 92.6%) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 256 °C; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.79 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 8.07 (d, 1H, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.74 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.46 – 7.34 (m, 2H), 7.33 – 7.22 (m, 3H), 3.50 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.4, 136.4, 135.6, 133.5, 129.1, 128.4, 106.8, 82.7 (quart. C), 139.3, 129.9, 127.0, 126.5, 123.7, 122.3, 113.9 (tert. C); 31.3 (sek. C); $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{IN}_2\text{O}$ (374.18); MS (EI): m/z = 374 ($[\text{M}]^{+\bullet}$, 100), 345 ($[\text{M-CHO}]^+$, 37); HPLC: 93.1% bei 254 nm, 89.1% bei 280 nm, t_{N} = 4.3 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 50:50), λ_{max} = 232, 320 nm.

11-Iod-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (67b)

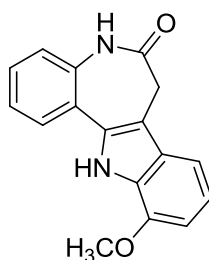
3,4-Dihydro-1*H*-1-benzazepin-2,5-dion (**65**, 198 mg, 1.13 mmol), 2-Iodphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38q**, 460 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (50 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1.5 h wurde konz. Schwefelsäure (0.7 mL) zum Reaktionsgemisch gegeben und weiter bei 70 °C gerührt. Nach 4h wurde der Ansatz abgekühlt und mit 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (391 mg, 92.6%) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Zers.: ab 302 °C; IR (KBr): 3444 (NH), 1672 (C=O), 1112, 619 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.29 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.92 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.71 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.0 Hz), 7.59 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.9 Hz), 7.40 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.32 – 7.20 (*m*, 2H), 6.90 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.4 Hz), 3.47 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.6, 139.3, 135.6, 133.6, 127.1, 122.3, 109.4, 76.7 (quart. C); 131.5, 128.5, 128.3, 123.3, 122.1, 121.1, 117.9 (tert. C); 31.6 (sek. C); C₁₆H₁₁IN₂O (374.18); HPLC: 84.9% bei 254 nm, 77.8% bei 280 nm, *t*_N = 4.6 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 251, 310 nm.

9-Methoxy-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (67c)

3,4-Dihydro-1*H*-1-benzazepin-2,5-dion (**65**, 198 mg, 1.13 mmol), 4-Methoxyphenylhydrazin-Hydrochlorid (**38f**, 297 mg, 1.70 mmol) und Natriumacetat (139 mg, 1.70 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in Eisessig (10 mL) vorgelegt und bei 70 °C gerührt. Nach 4 h wurde die Reaktion mit 5% wässriger Natriumacetatlösung (40 mL) beendet. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert. Das Produkt (309 mg, 98.4%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

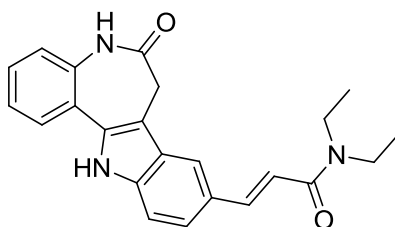
Zers.: ab 310 °C (Lit: 330 °C¹⁴⁶); ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.43 (s, 1H), 10.08 (s, 1H), 7.82 – 7.67 (*m*, 1H), 7.42 – 7.29 (*m*, 2H), 7.29 – 7.22 (*m*, 2H), 7.18 (*d*, 1H, ⁴*J*_{H,H} = 2.4 Hz), 6.81 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2.4 Hz), 3.81 (s, 3H), 3.50 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 171.7, 153.5, 135.3, 133.0, 132.6, 126.9, 123.0, 107.5 (quart. C); 127.8, 126.8, 123.6, 122.2, 112.5, 112.2, 99.5 (tert. C); 31.6 (sek. C); 55.4 (prim. C); C₁₇H₁₄N₂O₂ (278.31); MS (EI): *m/z* = 278 ([M]⁺, 100), 249 ([M-CHO]⁺, 67); HPLC: 97.5% bei 254 nm, 97.7% bei 280 nm, *t*_N = 4.2 min, *t*_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 240, 312 nm.

11-Methoxy-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (67d)

5-[2-(2-Methoxyphenyl)hydrazono]-4,5-dihydro-1*H*-benzo[*b*]azepin-2(3*H*)-on (**66d**, 259 mg, 0.880 mmol) wurde in Diphenylether (60 mL) für 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde *n*-Hexan (110 mL) dazugegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit reichlich Petrolether (300 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus Ethanol wurde das Produkt (46.0 mg, 18.8%) als schwarzer Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.59 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 7.85 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.1 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.44 – 7.30 (m, 1H), 7.28 – 7.19 (m, 2H), 7.06 – 6.96 (m, 2H), 6.75 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.9 Hz, $^4J_{\text{H,H}}$ = 0.8 Hz), 3.96 (s, 3H), 3.45 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.7, 146.1, 135.3, 132.4, 127.8, 127.7, 122.9, 108.3 (quart. C); 130.0, 123.4, 122.1, 119.7, 118.6, 110.6, 102.7 (tert. C); 31.8 (sek. C); 55.2 (prim C); $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (295.34); HPLC: 86.2% bei 254 nm, 79.0% bei 280 nm, t_{N} = 5.1 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 40:60), λ_{max} = 305 nm.

(*E*)-*N,N*-Diethyl-3-(6-oxo-5,6,7,12-tetrahydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-9-yl)-acrylamid (**68**)

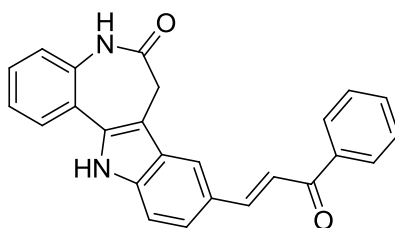


9-Iod-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**67a**, 101 mg, 0.270 mmol), *N,N*-Diethylacrylamid (**55a**, 37 mg, 0.29 mmol), Triethylamin (2 mL) und $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (11 mg) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1 h bei 150 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (EE) und anschließender Umkristallisation aus Ethanol gereinigt. Das Produkt (12 mg) wurde als (*E/Z*)-Isomerengemisch erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.76 (s, 1H), 11.69 (s, 1H), 10.13 (s, 2H), 7.82 – 7.21 (m, 14H), 7.15 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 15.4 Hz), 7.07 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 15.3 Hz), 6.68 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 12.7 Hz), 6.03 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 12.7 Hz), 3.64 – 3.36 (m, 12H), 1.39 – 0.75

(*m*, 12H); $C_{23}H_{23}N_3O_2$ (373.45); MS (EI): m/z = 373 ($[M]^{+\bullet}$, 98), 301 ($[M-C_4H_{10}N]^+$, 100); HPLC: Isomer 1) 41.5% bei 254 nm, 38.3% bei 280 nm, t_N = 4.3 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 248, 279, 321 nm; Isomer 2) 48.6% bei 254 nm, 48.6% bei 280 nm, t_N = 5.2 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 40:60), λ_{max} = 250, 302 nm.

(*E*)-9-(3-Oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (69a)

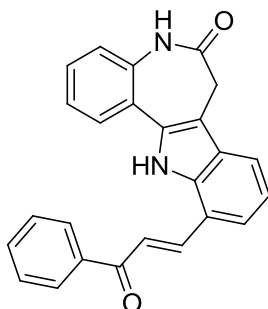


9-Iod-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**67a**, 109 mg, 0.290 mmol), *N,N*-Dimethyl-3-oxo-3-phenylpropan-1-ammoniumchlorid (**56a**, 57 mg, 0.32 mmol), Triethylamin (2 mL) und Pd(OAc)₂ (11 mg) wurden in DMF (5 mL) vorgelegt und für 1 h bei 145 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (100 mL) versetzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (EE) und anschließender Umkristallisation aus Ethanol gereinigt. Das Produkt (6.0 mg, 5.5%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11.89 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.39 – 8.30 (*m*, 1H), 8.19 (*dd*, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 7.97 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.5 Hz), 7.92 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.5 Hz), 7.76 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.72 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.6 Hz), 7.67 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.3 Hz), 7.64 – 7.56 (*m*, 2H), 7.53 – 7.45 (*m*, 1H), 7.45 – 7.35 (*m*, 1H), 7.28 (*ddd*, 2H, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 6.0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz), 3.63 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 188.9, 171.5, 138.9, 138.0, 135.6, 133.8, 127.1, 126.1, 122.4, 108.5 (quart. C); 146.2, 132.8, 128.8, 128.7 (2C), 128.3 (2C), 126.8, 123.7, 123.5, 122.3, 120.1, 118.6, 111.9 (tert. C); 31.4 (sek. C); C₂₅H₁₈N₂O₂ (378.42); MS (EI): m/z = 378 ($[M]^{+\bullet}$, 100), 349 ($[M-$

CHO]⁺, 51); HPLC: 78.9% bei 254 nm, 79.5% bei 280 nm, $t_N = 5.3$ min, $t_M = 1.09$ min (ACN/H₂O; 50:50), $\lambda_{\max} = 237, 310, 362$ nm.

11-(3-Oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl)-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (69b)

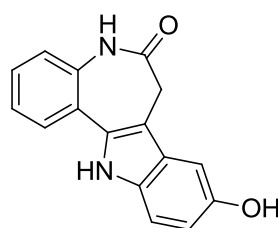


11-Iod-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**67b**, 300 mg, 0.800 mmol), *N,N*-Dimethyl-3-oxo-3-phenylpropan-1-ammoniumchlorid (**56a**, 157 mg, 0.880 mmol), Triethylamin (3 mL) und Pd(OAc)₂ (22 mg) wurden in DMF (6 mL) vorgelegt und für 1 h bei 145 °C im Parallelsynthesereaktor gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine Kohlefritte filtriert und das Filtrat mit Ethylacetat (220 mL) versetzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (EE) und anschließender Umkristallisation aus Ethanol gereinigt. Das Produkt (10 mg, 3.3%) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Zers.: ab 299 °C; IR (KBr): 3283 (NH), 3056 (CH aliph.), 1658 (C=O), 1588, 1215 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 12.01$ (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 8.62 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.4 Hz), 8.27 – 8.17 (*m*, 2H), 8.06 (*d*, 1H, ³*J*_{H,H} = 15.3 Hz), 8.00 – 7.97 (*m*, 1H), 7.94 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 7.82 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.8 Hz), 7.73 – 7.66 (*m*, 1H), 7.64 – 7.56 (*m*, 2H), 7.41 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz), 7.31 (*ddd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.3 Hz), 7.27 (*dd*, 1H, ³*J*_{H,H} = 8.1 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1.2 Hz), 7.21 (*td*, 1H, ³*J*_{H,H} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 0.6 Hz), 3.54 (s, 2H); ¹³C-NMR (100.6 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 188.9, 171.5, 137.8, 136.8, 135.5, 133.4, 127.7, 122.4, 118.8, 108.2$ (quart. C); 139.6, 132.9, 128.7 (2C), 128.4 (2C), 128.2, 127.6, 123.4, 122.1, 121.4, 120.7, 120.5, 119.5 (tert. C); 31.4 (sek. C);

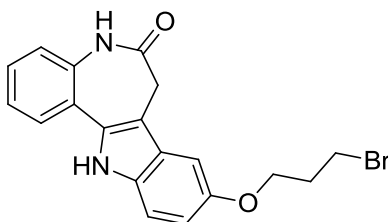
$C_{25}H_{18}N_2O_2$ (378.42); MS (EI): m/z = 378 ($[M]^{+\bullet}$, 100), 349 ($[M-CHO]^+$, 24), 301 ($[M-C_6H_5]^+$, 49); HRMS (EI): m/z ($[M]^{+\bullet}$) ber. 378.13628, gef. 378.13674; HPLC: 92.7% bei 254 nm, 95.2% bei 280 nm, t_N = 8.1 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 50:50), λ_{max} = 232, 269, 305 nm

9-Hydroxy-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (70a)



9-Methoxy-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**67c**, 200 mg, 0.720 mmol) wurde unter Stickstoff-Atmosphäre in Dichlormethan (20 mL) vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Bortribromid (2.9 mmol, 1 M-Lösung in Dichlormethan) zur Reaktionssuspension gegeben. Nach vierstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit Eiswasser gekühlt und schließlich die Reaktion durch Zugabe von Wasser (40 mL) beendet. Die organische Phase wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Der zurückbleibende Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt (164 mg, 86.3%) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Schmp.: 251 – 266 °C; IR (KBr): 3415 (NH), 1642 (C=O) cm^{-1} ; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 11.24 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 7.70 (dd, 1H, $^3J_{H,H}$ = 7.7 Hz, $^4J_{H,H}$ = 1.4 Hz), 7.39 – 7.30 (m, 1H), 7.29 – 7.20 (m, 3H), 6.90 (d, 1H, $^4J_{H,H}$ = 2.3 Hz), 6.70 (dd, 1H, $^3J_{H,H}$ = 8.6 Hz, $^4J_{H,H}$ = 2.3 Hz), 2.54 (s, 2H); ^{13}C -NMR (100.6 MHz, DMSO- d_6): δ = 171.6, 150.8, 135.2, 132.9, 132.0, 127.2, 123.1, 106.8 (quart. C), 127.7, 126.7, 123.6, 122.2, 112.6, 111.9, 101.6 (tert. C); 31.7 (sek. C); $C_{16}H_{12}N_2O_2$ (264.28); MS (EI): m/z = 264 ($[M]^{+\bullet}$, 100), 235 ($[M-CHO]^+$, 96); HPLC: 99.0% bei 254 nm, 98.7% bei 280 nm, t_N = 9.6 min, t_M = 1.09 min (ACN/H₂O; 20:80), λ_{max} = 234, 315 nm.

9-(3-Brompropoxy)-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (71)

9-Hydroxy-7,12-dihydrobenzo[2,3]azepino[4,5-*b*]indol-6(5*H*)-on (**70a**, 273 mg, 1.03 mmol) und Kaliumcarbonat (285 mg, 2.06 mmol) wurden in Aceton (20 mL) für 30 min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde 1,3-Dibrompropan (**60**, 2.09 g, 10.3 mmol, 1.05 mL) hinzugefügt und weiter für 5 d zum Rückfluss erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Reaktionslösung mit Wasser (50 mL) verdünnt und mit Ethylacetat (3 x 75 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck wurde das Lösungsmittel abdestilliert. Das Produkt (33 mg, 8.3%) wurde mittels säulenchromatographischer Reinigung (EE:Hex = 1:1) als hellbrauner Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 11.43 (s, 1H), 10.07 (s, 1H), 7.71 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz), 7.39 – 7.35 (m, 1H), 7.35 – 7.30 (m, 1H), 7.30 – 7.19 (m, 3H), 6.83 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 2.4 Hz), 4.14 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.0 Hz), 3.72 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.5 Hz), 3.49 (s, 2H), 2.29 (dt, 2H, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.6 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.3 Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 171.6, 152.5, 135.3, 133.1, 132.7, 126.9, 122.9, 107.5 (quart. C); 127.8, 126.7, 123.6, 122.2, 112.9, 112.2, 100.8 (tert. C); 65.8, 32.1, 31.6, 31.5 (sek. C); $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_2$ (385.25); HPLC: 78.9% bei 254 nm, 81.5% bei 280 nm, t_{N} = 4.8 min, t_{M} = 1.09 min (ACN/ H_2O ; 50:50), λ_{max} = 236, 315 nm.

7.3. Biologische Testung

Die Assays zur Zytotoxizität und an den Epimastigoten der *T. cruzi* wurden von Frau M. Abad Dar und Frau H. Erdmann aus der Arbeitsgruppe von Herrn C. Hölscher am Forschungszentrum Borstel vorgenommen.

Die Tests an *T. b. brucei* und den TryS wurden von Herrn D. Benítez und Herrn D. Charquero aus dem Arbeitskreis von Herrn M. A. Comini am Institut Pasteur de Montevideo in Uruguay durchgeführt. Des Weiteren erfolgte in dem Arbeitskreis von M. A. Comini auch die Expression der rekombinanten TryS-Proteine. Sofern nicht anders angegeben, weisen die verwendeten Reagenzien analytische Reinheitsgrade auf und wurden von Sigma-Aldrich bezogen.

7.3.1. Zytotoxizitätsmessungen

Gewinnung und Kultivierung der Mausmakrophagen

Die Gewinnung der Mausmakrophagen erfolgte, indem zunächst *Femur* und *Tibiae* entnommen und gesäubert wurden. Anschließend wurden die Knochenenden abgeschnitten und mit 20 mL Plutznik-Medium (260 mL DMEM, 50 mL 10% FCS, 25 mL 5% Pferdeserum, 150 mL 30% L929 Überstand, 5 mL 2 mM L-Glutamin, 5 mL 1% PS, 5 mL 1 mM Na-Pyruvat, 500 µL 100 µM 2-ME) durchgespült. Die Lösung wurde in einem 50 mL Probengefäß aufgefangen und zentrifugiert (1000 rpm, 10 min, 4 °C). Nachdem der Überstand verworfen wurde, wurde das Pellet in 10 mL neuem Plutznik-Medium resuspendiert. Nach dem Auszählen der mit Türks Lösung gefärbten Zellen wurden 10 mL Plutznik-Medium in Petrischalen vorgelegt und 3×10^6 Zellen in diese Schalen ausgesät. Anschließend wurden die Petrischalen im Brutschrank bei 37 °C mit einem CO₂-Anteil von 5% inkubiert. Nach der Zugabe von 10 mL Plutznik-Medium am 3. Tag wurde am 7. Tag das überstehende Medium abgesaugt und 5 mL warmes PBS und 3 mL Accutase hinzugefügt und für 5 min im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden die Zellen abgespült und in einem 50 mL Probengefäß gesammelt. Nach dem Zentrifugieren (1000 rpm, 10 min, 4 °C) wurde der Überstand verworfen und das Pellet in 10 mL DMEM mit 10% FCS, 1%

LG, 1% PS resuspendiert und nach Färbung mit Trypanblau wurden die Zellen erneut gezählt. Daraufhin war die Aussaat in das jeweilige Plattenformat möglich.

Zytotoxizitätsmessung am xCELLigence

Für die Messung am xCELLigence erfolgte zunächst die Vorlage von 25 µL Medium pro Kavität. Anschließend wurde die E-plate VIEW 96 am xCELLigence, welches sich in einem Brutschrank bei 37 °C mit einem CO₂-Anteil von 5% befand, geprüft. Nach der Erkennung der Kavitäten wurden von der Zellsuspension, die ungefähr 1.5×10^6 Zellen/mL enthielt, je 50 µL in die jeweiligen Kavitäten gefüllt. Zu den Kavitäten, in denen keine Zellen vorgelegt wurden, wurden 50 µL Medium hinzugefügt, damit in allen Kavitäten das gleiche Volumen vorlag. Danach wurde die Platte in das xCELLigence gestellt und eine Messung gestartet. Nach Absetzen der Zellen wurde die Messung unterbrochen und die Platte aus dem Gerät genommen, um die zu testenden Substanzen hinzuzufügen. Von den vorbereiteten, in DMSO gelöst und im Medium verdünnten Proben wurden je 100 µL pro Kavität hinzugefügt. Anschließend wurden die Kavitäten mit 25 µL Medium aufgefüllt, so dass das Endvolumen 200 µL pro Kavität betrug. Die Kavitäten, in denen sich keine Substanzen befanden, wurden mit Medium entsprechend auf das Gesamtvolumen von 200 µL aufgefüllt. Anschließend wurde die Messung für 24 h im xCELLigence fortgeführt. Insgesamt erfolgte die Datenerhebung 100 mal alle 15 min und anschließend 100 mal alle 30 min.

Als Referenzen dienten das Medium ohne Zellen, Medium mit Zellen und DMSO 0.1% sowie Staurosporin 3 µM als positive Kontrolle und LPS 10 ng/mL als negative Kontrolle. Die Gesamtkonzentration an DMSO in den Kavitäten betrug 0.1%. Von allen Konzentrationen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Getestet wurden die Substanzen **21a-f**, **21h**, **21j-m**, **21o-t**, **21f**, **22a-c**, **23a-d**, **24a-c** und **25a-c**. Diese zeigten im Konzentrationsbereich zwischen 5 – 60 µM keine toxischen Eigenschaften (toxische Eigenschaften \triangleq Wachstumsinhibition > 50%).

7.3.2. Proliferationsassays an trypanosomalen Parasiten

Durchführung des MTT-Assays an *Trypanosoma cruzi*-Epimastigoten¹³⁶

Die axenischen *T. cruzi* Epimastigoten (3×10^6 Epimastigoten/mL) des Y-Stamms wurden bei 28 °C im Brutschrank im LIT-Medium (4.0 g NaCl, 0.4 g KCl, 8.0 g Na_2HPO_4 , 2.0 g Glukose, 5.0 g Tryptose Broth in 850 mL Braun-Wasser, Zugabe von 5 mL Hemin-Lösung, 50 mL Leberpulver-Lösung, 100 mL FCS) kultiviert. 900 µL der Kultur wurden jeweils in die Kavitäten einer 24-well-Platte gegeben. Nach Zugabe der vorbereiteten, in DMSO gelösten und im Medium verdünnten Substanzen wurden die Platten für 72 h bei 28 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurden in jede Kavität 100 µL einer 2.5 mg/mL MTT-PMS-Lösung pipettiert und für weitere 45 min inkubiert. Anschließend wurden die Formazan-Kristalle durch Zugabe von 10%-iger SDS-Lösung (1 mL), die mit 0.01 M HCl versetzt wurde, gelöst und für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Platte bei einer Wellenlänge von 595 nm ausgelesen.

Die Maximalkonzentrationen der getesteten Verbindungen sind auf ihre unterschiedlichen Löslichkeiten in DMSO zurückzuführen. Als Referenzen wurden a) das Medium ohne Epimastigoten, b) Medium mit 0.1% DMSO sowie c) als positive Kontrolle Nifurtimox 11 µM verwendet. Nifurtimox weist bei dieser Konzentration eine Inhibition von 51.45% auf. Die Gesamtkonzentration an DMSO in der Kavität betrug 0.1%. Alle Untersuchungen wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Nachfolgend sind die Inhibitionswerte in % der getesteten Verbindungen in den jeweiligen Konzentrationen tabellarisch aufgelistet.

Tabelle 10: Übersicht zur Inhibition (in %) von *T. cruzi*-Epimastigoten nach einer Inkubationszeit von 72 h.

Verbindung	Konzentrationen (µM)		
21a	46.09	23.05	11.52
Inhibition (%)	-0.59	3.52	1.76
21b	68.97	34.48	17.24
Inhibition (%)	-1.50	3.10	2.45

Verbindung	Konzentrationen (μM)		
21c	17.29	8.64	4.32
Inhibition (%)	8.00	4.56	7.17
21d	24.76	12.38	6.19
Inhibition (%)	8.18	15.68	9.23
21e	38.98	19.49	9.74
Inhibition (%)	12.24	15.63	20.36
21f	78.91	39.46	19.73
Inhibition (%)	30.98	28.86	27.98
21h	7.34	3.67	1.84
Inhibition (%)	8.95	7.95	20.02
21j	24.45	12.23	6.11
Inhibition (%)	6.78	14.91	11.12
21k	19.19	9.60	4.80
Inhibition (%)	7.73	6.01	9.45
21l	12.25	6.13	3.06
Inhibition (%)	5.17	5.51	7.29
21m	10.69	5.34	2.67
Inhibition (%)	2.28	5.84	10.23
21o	16.43	8.21	4.11
Inhibition (%)	5.89	4.00	9.73
21p	20.87	10.40	5.22
Inhibition (%)	6.62	2.56	10.29
21q	6.40	3.20	1.60
Inhibition (%)	6.84	9.73	11.79
21r	16.79	8.39	4.20
Inhibition (%)	-5.15	-1.73	-0.23
21s	38.99	19.50	9.75
Inhibition (%)	16.29	19.58	22.86
21t	83.51	41.76	20.88
Inhibition (%)	0.98	11.51	11.61
21v	8.97	4.48	2.24
Inhibition (%)	13.46	10.12	13.07
22a	59.02	29.51	14.70
Inhibition (%)	27.42	22.58	25.36
22b	57.35	28.67	14.34
Inhibition (%)	22.02	21.13	22.47
22c	29.28	14.64	7.32
Inhibition (%)	22.14	20.19	22.58
23a	27.12	13.56	6.78
Inhibition (%)	26.36	22.91	23.97
23b	25.11	12.55	6.28
Inhibition (%)	21.19	18.97	21.36
23c	50.69	25.35	12.67
Inhibition (%)	18.85	22.64	23.03

Verbindung	Konzentrationen (µM)		
23d	59.53	29.77	14.88
Inhibition (%)	13.24	23.25	26.42
24a	56.24	28.12	14.06
Inhibition (%)	28.36	27.53	31.15
24b	60.49	30.25	15.12
Inhibition (%)	28.92	27.09	25.75
24c	24.83	12.41	6.21
Inhibition (%)	22.91	21.25	21.58
25a	26.65	13.32	6.66
Inhibition (%)	20.36	20.13	22.36
25b	50.31	25.16	12.58
Inhibition (%)	16.52	N/D	22.14
25c	14.38	7.19	3.59
Inhibition (%)	11.90	11.23	14.13
69b	53.33	26.66	13.33
Inhibition (%)	30.48	21.52	21.69

Proliferationsassay an infektiösen *Trypanosoma brucei brucei*-Parasiten

Die infektiöse Form von *Trypanosoma brucei brucei* (Stamm 427, Zelllinie 449) (Kopie des tet-Repressor Proteins: Pleo^R 147) wurde bei 37 °C im Brutschrank mit einem CO₂-Anteil von 5% im HMI-9 Medium¹⁴⁸, welches mit 10% FCS (PAA), 10 U/mL Penicillin (Gibco®), 10 µg/mL Streptomycin (Gibco®), 0.2 µg/mL Pleomycin (Gibco®) und 5 µg/mL Hygromycin (Invitrogen) versetzt wurde, kultiviert. Die Stammlösungen der Proben wurden in Konzentrationen von 3 - 24 mM in DMSO vorbereitet. Es wurden zweifach verdünnte Lösungen der Stammlösungen angefertigt. Die Trypanosomen wurden in der Neubauer-Kammer gezählt (*mid-exponential phase*, ~2 Mio. Zellen/mL) und nach Zentrifugation bei 2 000 g für 10 min bei Raumtemperatur geerntet. Je 2 µL der einzelnen Stammlösungen wurden in einer 96-*well*-Platte (Corning Incorporated, costar® 3599) vorgelegt. Nach der Zugabe von 200 µL der Zellsuspension (5×10^5 Zellen/mL) wurde die Platte bei 37 °C im Brutschrank mit einem CO₂-Anteil von 5% inkubiert. Nach 24 h wurden 100 µL der Proben in 1.1 mL Probengefäßen (T100, BiotubeTM System) überführt und mit 200 µL einer sterilen phosphat-gepufferten Salzlösung pH 7.0 mit 1% Glukose verdünnt. Nach Zugabe von 2 µL Propidiumiodid-Lösung (PI, 200 mg/mL) wurden die

Proben unter Verwendung eines CyAn™ ADP (DakoCytomation) Durchflusszytometers analysiert. Die Durchflusszytometrie besitzt als anregende Lichtquelle einen 488 nm Festkörperlaser. Die Zellen wurden durch Vorwärtsstreulicht (FSC) und Seitwärtsstreulicht (SSC) detektiert, während die Fluoreszenz von PI bei $\lambda_{em} = 613/630$ nm gemessen wurde. Die Signale wurden logarithmisch mit Hilfe von Verstärkern detektiert. Alle Messungen wurden mit einem konstanten Fluss und einer Messdauer von 60 s durchgeführt. Die Daten wurden unter Verwendung von Summit (Dako) und Flow-Jo (FLOWJO) Software analysiert. Als Positivkontrolle wurde Nifurtimox mit einer Konzentration von 15 μM eingesetzt. Die Proben wurden in der jeweiligen Konzentration als Doppelbestimmung gemessen.

Die EC_{50} -Werte wurden durch Dosis-Wirkungs-Kurven ermittelt, die einer sigmoidalen Boltzmann-Verteilung angepasst oder durch nicht lineare Anpassungen extrapoliert wurden. Die Tabelle 11 zeigt für die getesteten Verbindungen das ermittelte Parasitenwachstum in %.

Tabelle 11: Übersicht zum *T. b. brucei*-Parasitenwachstum (in %) nach einer Inkubationszeit von 24 h.

Verbindung	Konz. (μM)	Parasitenwachstum (%)	n	Verbindung	Konz. (μM)	Parasitenwachstum (%)	n
21a	5	105.1 \pm 0.2	2	22a	30	22.1 \pm 0.6	2
21b	5	19.3 \pm 5.2	2	22b	5	1.2 \pm 0.1	2
21c	30	64.7 \pm 6.8	2	22c	5	12.1 \pm 4.4	2
21d	30	64.7 \pm 2.3	2	23a	5	54.0 \pm 3.1	2
21e	30	88.9 \pm 2.6	2	23b	5	44.5 \pm 2.7	2
21f	30	92.0 \pm 11.6	2	23c	5	38.4 \pm 2.7	2
21h	30	106.0 \pm 16.4	2	23d	30	21.9 \pm 0.0	3
21j	30	88.1 \pm 2.2	2	24a	30	81.6 \pm 3.9	2
21k	5	75.0 \pm 1.4	2	24b	5	7.8 \pm 1.5	2
21l	30	67.6 \pm 5.8	2	24c	5	7.3 \pm 0.9	2
21m	30	72.1 \pm 7.6	2	25a	5	3.9 \pm 0.3	3
21o	30	67.2 \pm 1.8	2	25b	30	79.9 \pm 10.5	2
21p	5	91.3 \pm 6.2	2	25c	5	74.6 \pm 7.3	2
21q	30	61.3 \pm 18.5	2	69b	5	2.5 \pm 0.2	3
21r	30	86.7 \pm 8.4	2				
21s	30	7.0 \pm 0.2	2				
21t	5	48.1 \pm 4.6	2				
21v*	N/D	N/D					

Erklärung: n – Anzahl der Messungen, * – Probe konnte nicht gelöst werden.

7.3.3. Enzymaktivitätsmessungen an *TbTryS*, *TcTryS* und *LiTryS*

Expression, Reinigung der rekombinanten Enzyme

Die Trypanothionsynthetasen (TryS) aus den drei verschiedenen trypanosomatiden Spezies wurden in rekombinanten Formen mit einem N-terminalen His-*tag* erzeugt. Die Konstrukte pET-15b *TbTryS*¹⁴⁹ (ein Geschenk von Dr. Alan Fairlamb, Dundee University, Schottland), pRSET-A *TcTryS* (ein Geschenk von Dr. Sergio Guerrero, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentinien) und pET-28a *LiTryS* (freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. Helena Castro, Institute for Molecular and Cell Biology, Porto, Portugal) wurden für die Expression von TryS aus *Trypanosoma brucei brucei* (Gen Bank™ Identifizierungsnummer CAC87573.1.), *T. cruzi*-Stamm Tulahuen 0 (GenBank™ Identifizierungsnummer AY155571.1) und *L. infantum* (GenBank™ Identifizierungsnummer CAM69145.1¹⁵⁰) verwendet. (Die Sequenz für *LiTryS* weist zwei Mutationen an Basennummer 307 (C zu T) und 1338 (C zu T) auf. Die erstgenannte führt zu einem Austausch von Prolin zu Serin in der Position 103. Diese Position befindet sich in der variablen Region der Amidasedomäne des Proteins. Kinetische Charakterisierungen der *LiTryS* deuten jedoch darauf, dass sich diese Veränderung nicht auf die kinetischen Parameter der Synthetasereaktion auswirken.) Die *Escherichia coli*-Stämme BL21(DE3) und Tuner(DE3) dienten als Expressionswirte für *TcTryS*, *TbTryS* und *LiTryS*. Die Startkulturen für die jeweiligen Wirt/Expressions-Systeme bestanden aus frischen transformierten Zellen in LB-Medium, das mit dem entsprechenden Antibiotikum (100 µg/mL Ampicillin für pET-15b *TbTryS* und pRSET-A für *TcTryS*s und 50 µg/mL Kanamycin für pET28a *LiTryS*) versetzt wurde. Die Kulturen wuchsen über Nacht bei 37 °C und 180 rpm. Zu einem 2 L Erlenmeyerkolben, der 500 mL des Terrific Broth Mediums, 10 g/L Glukose und Antibiotika in den genannten Konzentrationen enthielt, wurden 5 mL der Startkultur gegeben. Die Kolben wurden bei 37 °C und 180 rpm inkubiert, bis die Kulturen bei 600 nm eine optische Dichte zwischen 0.8 - 1.0 aufwiesen. Nach 15 min bei 4 °C wurde die Expression der rekombinanten Proteine durch die Zugabe von 0.5 mM Isopropyl-1-thio-β-D-galactopyranosid induziert. Die Kultivierung erfolgte bei 25 °C und 180 rpm für weitere 5 h. Davon abweichend wuchsen die Bakterien, die die *TcTryS* exprimieren, für zusätzliche ~ 13 h. Die Zellen

wurden durch Zentrifugation bei 4 000 g für 15 min bei 4 °C (Zentrifuge Sorvall RC-6, Thermo Fisher Scientific) geerntet und in 50 mM NaH₂PO₄ pH 7.2, 300 mM NaCl und 10 mM Imidazol (Puffer A) in einem Verhältnis von 1 g Nassgewicht des Pellets pro 5 mL Puffer resuspendiert. Die Zelllyse wurde durch Schütteln mit Lysozym (30 mg % w/v) für 1 h bei 4 °C und anschließender Ultraschallbehandlung (4 Pulse innerhalb 30 s mit Pausen von 60 s) auf Eis unter Verwendung des Digital Sonifiers 450 (Branson) erreicht. Das Lysat wurde zweimal zentrifugiert bei 20 000 g für 20 min bei 4 °C (Zentrifuge Sorvall RC-6, Thermo Fisher Scientific), um die Ablagerungen abzutrennen. Die überstehende Lösung, die das lösliche Protein enthielt, wurde durch Filtration (0.7 µm Filter) gereinigt und anschließend auf eine 1 mL HisTrap Fast Flow Säule (GE Healthcare) in Puffer A aufgetragen. Die Säule wurde mit Puffer A und einem Zusatz von 25 mM Imidazol gewaschen. Das rekombinante Protein wurde isokratisch mit 10 mL Puffer B (Puffer A mit 500 mM Imidazol) eluiert. Diese Chromatographie wurde bei 4 °C und einer Flussrate von 1.0 mL/min unter Verwendung einer Schlauchradpumpe (TRIS Teledyne ISCO) durchgeführt. Die das homogene und aktive Enzym enthaltenden Fraktionen (getestet mit einem kinetischen Assay unter gesättigten Bedingungen¹⁵¹) wurden vereinigt und mit einem 30 kDa cut-off Amicon Filter (Millipore) aufkonzentriert. Alle rekombinanten TrySs wurden über einen zweiten Reinigungsschritt, der Größenausschlusschromatographie (SEC), in einer SuperdexTM 200 10/300 GL (GE Healthcare) mit Reaktionspuffer (siehe die Durchführung des Aktivitätsassays) unter Zusatz von 150 mM NaCl erhalten. Die eluierten Fraktionen mit den homogenen und aktiven Proteinen wurden vereinigt. Für *TcTryS* und *TbTryS* erfolgte der letzte Reinigungsschritt über eine Anionenaustauschchromatographie mit Hilfe der MonoQ HR 5/5 Säule (GE Healthcare). Vor der eigentlichen Injektion auf die MonoQ Säule wurden die Proteinproben über eine PD-10 Säule (Sephadex G25 matrix; GE Healthcare) mit dem Reaktionspuffer entsalzt. Die MonoQ Säule wurde vorher mit Puffer gespült, bis bei einer Wellenlänge von 280 nm keine Absorption mehr detektiert wurde. Anschließend wurden die Proteine mit einem linearen Gradienten von 0 bis 500 mM NaCl im Reaktionspuffer eluiert. Diese beiden Chromatographien wurden bei Raumtemperatur unter Verwendung eines Äkta-FPLC-Gerätes (GE Healthcare) durchgeführt. Die Reinheit der Proteine wurde nach jedem Reinigungsschritt durch SDS-PAGE (12 % Gel) unter reduzierenden Bedingungen ermittelt. Die Proteinkonzentrationen wurden durch den Bicinchoninic Acid Assay mit

Kälberserum-Albumin als Standard bestimmt. Die Enzymaktivität wurde durch eine Endpunktsbestimmung wie unten beschrieben ermittelt (siehe Aktivitätsassay). Die Protokolle ergaben Ausbeuten von ~1 – 1.5 mg des rekombinanten Proteins pro Liter des Kulturmediums mit einer Reinheit $\geq 95\%$. Die Proteine wurden bei 20 °C im Reaktionspuffer mit Zusatz von 40 % (v/v) Glycerol (Carlo Erba Reagents SA) gelagert. Es wurde kein signifikanter Verlust der Aktivität über einen Zeitraum von 3 Monaten verzeichnet.

TryS-Aktivitätsassay

Bei diesem Assay wurde das anorganische Phosphat bestimmt, welches während der TryS Katalyse aus ATP freigesetzt wurde. Durch die Komplexbildung des kationischen Triphenylmethanfarbstoffs (BIOMOL GREEN™ Enzo® Life Sciences) mit Phosphat entsteht ein grüner Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei 650 nm. Der Puffer bestand aus 100 mM HEPES-K pH 7.4, 0.5 mM EDTA, 10 mM MgSO₄ und 5 mM DTT. Die Master Mix-Lösungen (MM) enthielten die Substrate in angepassten Konzentrationen entsprechend der in der Literatur¹⁵²⁻¹⁵⁶ beschriebenen intrazellulären Konzentrationen in den Trypanosomatiden. Die kinetischen Parameter waren der Literatur^{147, 149} zu entnehmen. Die Parameter der *LiTryS* und der *TcTryS* wurden von BENITEZ et al. (unpublizierte Ergebnisse) bestimmt. Die Spermidinkonzentration wurde für alle Enzyme auf 2 mM festgelegt. Die Glutathionkonzentrationen hingegen wurden auf 570 µM, 250 µM und 50 µM für *TcTryS*, *LiTryS* und *TbTryS* festgelegt. Die Assays wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Es wurden 96-well-Platten (Corning Incorporated, costar® 3590) verwendet. Das Gesamtvolumen in den Kavitäten betrug 50 µL und setzte sich wie folgt zusammen: 40 µL der MM-Lösung, 5 µL der zu testenden, in DMSO gelösten Verbindung und 5 µL der Enzymlösung (*TcTryS*: 92 nM, ~ 0.200 µmol/min·mg; *TbTryS*: 230 nM, ~ 0.070 µmol/min·mg; *LiTryS*: 200 nM, ~ 0.135 µmol/min·mg). Als Reaktionskontrolle dienten 5 µL DMSO in der Konzentration, wie sie zur Lösung der entsprechenden Probe benötigt wurden. Die Inhibitionskontrollen wurden durch Zugabe von 5 µL der entsprechenden Inhibitoren mit IC₅₀-Konzentrationen (30 µM Verbindung Mol2008, 350 µM FS554 und 2.82 mM GSH für *TbTryS*, *LiTryS* und *TcTryS*) ausgeführt. Es wurden auch Kontrollen ohne Enzymzugabe durchgeführt. Die Proben und die Kontrollen wurden in den jeweiligen Konzentrationen vierfach vermessen.

Die Reaktion wurde initiiert durch die Zugabe des Enzyms (bzw. Pufferzugabe, wenn keine Enzymzugabe erfolgt) und wurde nach 15 min durch die Zugabe von 200 μL BIOMOL GREENTM-Reagenz beendet. Nach 20 min Entwicklungszeit konnten die Proben bei einer Wellenlänge von 650 nm in einem MultiScan EX *plate reader* (Thermo SCIENTIFIC) vermessen werden. Die IC_{50} -Werte wurden durch Dosis-Wirkungs-Kurven ermittelt, die einer sigmoidalen Boltzmann Verteilung angepasst oder durch nicht lineare Anpassungen extrapoliert wurden. In der Tabelle 12 sind für die getesteten Verbindungen in Konzentrationen von 30 μM die gemessenen Restaktivitäten (in %) der *TbTryS* und der *LtTryS* aufgelistet.

Tabelle 12: Übersicht der *TbTryS*- bzw. *LtTryS*-Restaktivitäten (in %) der Testverbindungen in Konzentrationen von 30 μM nach einer Inkubationszeit von 15 min.

Verbindung	Restaktivität (in %) <i>TbTryS</i>	n	Restaktivität (in %) <i>LtTryS</i>	n
21a	100.5 \pm 7.6	4	65.9 \pm 6.5	4
21b	107.0 \pm 8.9	4	74.4 \pm 3.2	3
21c	100.0 \pm 1.1	3	88.4 \pm 4.2	4
21d	91.3 \pm 5.6	4	84.1 \pm 5.8	4
21e	63.8 \pm 7.8	3	75.3 \pm 3.5	2
21f	101.8 \pm 7.1	4	64.4 \pm 5.0	2
21h	97.2 \pm 7.7	4	80.6 \pm 5.1	4
21j	97.4 \pm 7.4	4	81.8 \pm 4.1	3
21k	84.2 \pm 1.1	3	88.2 \pm 5.0	4
21l	104.1 \pm 9.0	4	77.0 \pm 10.1	4
21m	96.7 \pm 6.1	4	61.3 \pm 5.0	2
21o	96.3 \pm 7.1	3	70.1 \pm 12.0	2
21p	98.7 \pm 3.6	6	66.5 \pm 5.0	2
21q	111.7 \pm 8.1	3	73.8 \pm 0.9	4
21r	99.1 \pm 2.3	4	74.8 \pm 3.4	4
21s	96.1 \pm 8.8	4	85.6 \pm 5.5	3
21t	92.2 \pm 4.9	4	83.8 \pm 4.2	3
21v*	N/D		N/D	
22a	91.5 \pm 5.2	4	84.4 \pm 6.3	3
22b	68.1 \pm 2.4	4	71.0 \pm 4.3	3
22c	67.5 \pm 4.2	6	70.6 \pm 7.8	3
23a	61.9 \pm 6.4	4	75.5 \pm 3.5	2
23b	77.6 \pm 5.4	4	55.9 \pm 2.6	3
23c	79.8 \pm 5.7	4	68.0 \pm 5.0	4
23d	90.2 \pm 3.8	4	63.3 \pm 5.0	4
24a	102.0 \pm 8.3	4	94.5 \pm 5.6	3
24b	94.6 \pm 2.7	4	91.3 \pm 2.0	3

Verbin- dung	Restaktivität (in %) <i>TbTryS</i>	n	Restaktivität (in %) <i>LtTryS</i>	n
24c	81.8 ± 5.5	4	81.3 ± 4.0	2
25a	91.1 ± 7.2	3	72.4 ± 6.0	3
25b	80.4 ± 3.1	3	69.4 ± 5.3	4
25c	73.2 ± 7.8	4	64.9 ± 2.1	2
69b	91.2 ± 7.5	4	76.1 ± 6.2	3

Erklärung: n – Anzahl der Messungen, * - Probe konnte nicht gelöst werden.

8. Literatur

- 1 Wissenschaftsjahr 2011: Forschung für unsere Gesundheit - Eine Initiative des Bundesministeriums für Bildung und Forschung: Im Schatten der Aufmerksamkeit, <http://www.forschung-fuer-unsere-gesundheit.de/gesundheitsforschung/vernachlaessigte-krankheiten-globale-kooperation/im-schatten-der-aufmerksamkeit.html>, abgerufen am 15.07.2013.
- 2 O'Neill, H. G., Mzilahowa, T., de Deus, N., Njenga, S. M., Mmbaga, E. J., Kariuki, T. M.: Evaluation of the european foundation initiative into african research in neglected tropical diseases by african fellows. *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2013**, 7, e2019.
- 3 Stich, A., Firmenich, P.: Die Karriere eines Medikaments. *Deutsches Ärzteblatt* **2001**, 98, A1735 - A1737.
- 4 Simarro, P. P., Franco, J., Diarra, A., Postigo, J. A. R., Jannin, J.: Update on field use of the available drugs for chemotherapy of human african trypanosomiasis. *Parasitology* **2012**, 139, 842 - 846.
- 5 Stich, A.: Die afrikanische Schlafkrankheit. *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, 38, 546 - 549.
- 6 Zhou, L., Stewart, G., Rideau, E., Westwood, N. J., Smith, T. K.: A class of 5-nitro-2-furancarboxylamides with potent trypanocidal activity against *Trypanosoma brucei* in vitro. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 796 - 806.
- 7 Simarro, P. P., Diarra, A., Postigo, J. A. R., Franco, J., Jannin, J. G.: The human african trypanosomiasis control and surveillance programme of the World Health Organization 2000-2009: The way forward. *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2011**, 5, e1007.
- 8 Regenass-Klotz, M., Regenass, U., *Tropenkrankheiten und Molekularbiologie - Neue Horizonte*. 1. Auflage, Birkhäuser Verlag AG, Basel, **2009**, S. 19 ff.
- 9 Kennedy, P. G. E.: Human african trypanosomiasis of the CNS: Current issues and challenges. *J. Clin. Invest.* **2004**, 113, 496 - 504.
- 10 Cox, F. E. G.: History of human parasitology. *Clin. Microbiol. Rev.* **2002**, 15, 595 - 612.
- 11 Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., Zinkernagel, R. M., *Medizinische Mikrobiologie: Verstehen - Lernen - Nachschlagen*. 9. Auflage, Goerg Thieme Verlag, Stuttgart, **1997**, S. 484 ff.
- 12 Brun, R., Blum, J., Chappuis, F., Burri, C.: Human african trypanosomiasis. *Lancet* **2010**, 375, 148 - 159.

- 13 Brun, R., Don, R., Jacobs, R. T., Wang, M. Z., Barrett, M. P.: Development of novel drugs for human african trypanosomiasis. *Future Microbiol.* **2011**, 6, 677 - 691.
- 14 WHO - World Health Organization, Human African Trypanosomiasis, http://www.who.int/trypanosomiasis_african/en/, abgerufen am 26.06.2013.
- 15 DNDi - Drugs for Neglected Disease initiative, Human African Trypanosomiasis, <http://www.dndi.org/diseases-projects/diseases/hat.html>, abgerufen am 26.06.2013.
- 16 Ezeokonkwo, R. C., Ezech, I. O., Iheagwam, C. N., Agu, W. E., Agbede, R. I. S.: Efficacy of Kelamidium in the prevention and treatment of *Trypanosoma brucei brucei* infection in albino rats. *Com. Clin. Pathol.* **2013**, 22, 219 - 226.
- 17 Omoja, V. U., Obidike, I. R.: Determination of effective dose combination of *Azadirachta indica* leaf extracts and diminazene diaceturate in the treatment of experimental *Trypanosoma brucei brucei* infection in rats. *Comp. Clin. Pathol.* **2013**, 22, 747 - 754.
- 18 Mehlhorn, H., Peters, W., *Diagnose der Parasiten des Menschen*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1983**, S. 74 ff.
- 19 Schuster, F. L., Sullivan, J. J.: Cultivation of clinically significant hemoflagellates. *Clin. Microbiol. Rev.* **2002**, 15, 374 - 389.
- 20 Dyer, N. A., Rose, C., Ejeh, N. O., Acosta-Serrano, A.: Flying tryps: survival and maturation of trypanosomes in tsetse flies. *Trends in Parasitol.* **2013**, 29, 188 - 196.
- 21 Maslov, D. A., Vovtypka, J., Yurchenko, V., Lukes, J.: Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: all that is hidden shall be revealed. *Trends Parasitol.* **2013**, 29, 43 - 52.
- 22 Kennedy, P. G. E.: Clinical features, diagnosis, and treatment of human african trypanosomiasis (sleeping sickness). *Lancet* **2013**, 12, 186 - 194.
- 23 Kennedy, P. G. E.: An alternative form of melarsoprol in sleeping sickness. *Trends Parasitol.* **2012**, 28, 307 - 310.
- 24 Rodgers, J., Jones, A., Gibaud, S., Bradley, B., McCabe, C., Barrett, M. P., Gettinby, G., Kennedy, P. G. E.: Melarsoprol cyclodextrin inclusion complexes as promising oral candidates for the treatment of human african trypanosomiasis. *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2011**, 5, e1308.
- 25 Schlitzer, M.: Wirkstoffe zur Behandlung der Afrikanischen Schlafkrankheit. *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, 38, 552 - 558.
- 26 Torreele, E., Bourdin Trunz, B., Tweats, D., Kaiser, M., Brun, R., Mazue, G., Bray, M. A., Pecoul, B.: Fexinidazole - A new oral nitroimidazole drug

- candidate entering clinical development for the treatment of sleeping sickness. *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2010**, 4, e923.
- 27 Jacobs, R. T., Nare, B., Wring, S. A., Orr, M. D., Chen, D., Sligar, J. M., Jenks, M. X., Noe, R. A., Bowling, T. S., Mercer, L. T., Rewerts, C., Gaukel, E., Owens, J., Parham, R., Randolph, R., Beaudet, B., Bacchi, C. J., Yarlett, N., Plattner, J. J., Freund, Y., Ding, C., Akama, T., Zhang, Y.-K., Brun, R., Kaiser, M., Scandale, I., Don, R.: SCYX-7158, an orally-active benzoxaborole for the treatment of stage 2 human african trypanosomiasis. *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2011**, 5, e1151.
 - 28 Kropf, S. P.: Carlos Chagas: science, health, and national debate in Brazil. *Lancet* **2011**, 377, 1740 - 1741.
 - 29 Lannes-Vieira, J., de Araujo-Jorge, T. C., de Nazare Correia Soeiro, M., Gadelha, P., Correa-Oliveira, R.: The centennial of the discovery of chagas disease: Facing the current challenges. *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2010**, 4, e645.
 - 30 WHO - World Health Organization, Chagas, <http://www.who.int/mediacentre/fact sheets/fs340/en/index.html>, abgerufen am 08.07.2013.
 - 31 Sainz, P., Sanz, J., Burillo, J., Gonzalez-Coloma, A., Bailen, M., Martinez-Diaz, R. A.: Essential oils for the control of reduviid insects. *Phytochem. Rev.* **2012**, 11, 361 - 369.
 - 32 Nagaiyothi, F., Machado, F. S., Burleigh, B. A., Jelicks, L. A., Scherer, P. E., Mukherjee, S., Lisanti, M. P., Weiss, L. M., Garg, N. J., Tanowitz, H. B.: Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* persistence in chagas disease. *Cell. Microbiol.* **2012**, 14, 634 - 643.
 - 33 Haberland, A., Munoz Saravia, S. G., Wallukat, G., Ziebig, R., Schimke, I.: Chronic Chagas disease: From basics to laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2013**, 51, 271 - 294.
 - 34 Sanchez-Moreno, M., Marin, C., Navarro, P., Lamarque, L., Garcia-Contreras, F., Pitarch, J., Arrebola, F.: In vitro and in vivo trypanosomicidal activity of pyrazole-containing macrocyclic and macrobicyclic polyamines: Their action on acute and chronic phase of chagas disease. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 4231 - 4243.
 - 35 da Silva, F. C., Ferreira, S. B., da Rocha, D. R., Ferreira, V. F.: Chagas disease: Challenges in developing new trypanocidal lead compounds. *Rev. Virtual Quim.* **2012**, 4, 46 - 72.
 - 36 Friggeri, L., Scipione, L., Costi, R., Kaiser, M., Moraca, F., Zamperini, C., Botta, B., Di Santo, R., De Vita, D., Brun, R., Tortorella, S.: New promising compounds with in vitro nanomolar activity against *Trypanosoma cruzi*. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, 4, 438 - 541.

- 37 ClinicalTrials.gov, Chagas, <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chagas&Search=Search>, abgerufen am 09.07.2013.
- 38 DNDi - Drugs for Neglected Disease initiative, Leishmaniasis, <http://www.dndi.org/diseases-projects/diseases/vl.html>, abgerufen am 10.07.2013.
- 39 Schurigt, U., Moll, H.: Behandlung und Prophylaxe der kutanen Leishmaniose. *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, 38, 532 - 537.
- 40 Hartley, M.-A., Kohl, K., Ronet, C., Fasel, N.: The therapeutic potential of immune cross-talk in leishmaniasis. *Clin. Microbiol. Infect.* **2013**, 19, 19 - 30.
- 41 Saha, P., Mukhopadhyay, D., Chatterjee, M.: Immunomodulation by chemotherapeutic agents against *Leishmaniasis*. *Int. Immunopharm.* **2011**, 11, 1668 - 1679.
- 42 Ryczak, J., Kunick, C.: Wirkstoffe zur Behandlung von Leishmaniosen. *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, 38, 538 - 544.
- 43 Croft, S. L., Olliaro, P.: Leishmaniasis chemotherapy - challenges and opportunities. *Clin. Microbiol. Infect.* **2011**, 17, 478 - 483.
- 44 ClinicalTrials.gov: A pilot study for capacity building for a multi-centre, randomized trial for treatment of Kala Azar in Bangladesh, <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01240473>, abgerufen am 19.08.2013.
- 45 Naula, C., Parsons, M., Mottram, J. C.: Protein kinases as drug targets in trypanosomes and *Leishmania*. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, 1754, 151 - 159.
- 46 Monnerat, S., Almeida Costa, C. I., Forkert, A. C., Benz, C., Hamilton, A., Tetley, L., Burchmore, R., Novo, C., Mottram, J. C., Hammarton, T. C.: Identification and functional characterisation of CRK12:CYC9, a novel cyclin-dependant kinase (CDK) - cyclin complex in *Trypanosoma brucei*. *PloS One* **2013**, 8, e67327.
- 47 Rosso, V. S., Szajnman, S. H., Malayil, L., Galizzi, M., Moreno, S. N. J., Docampo, R., Rodriguez, J. B.: Synthesis and biological evaluation of new 2-alkylaminoethyl-1,1-bisphosphonic acids against *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* targeting farnesyl diphosphate synthase. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 2211 - 2217.
- 48 Flohé, L.: The trypanothione system and the opportunities it offers to create drugs for the neglected kinetoplast diseases. *Biotechnol. Adv.* **2012**, 30, 294 - 301.
- 49 Flohé, L.: The trypanothione system and its implications in the therapy of trypanosomatid diseases. *Int. J. Med. Microbiol.* **2012**, 302, 216 - 220.
- 50 Irigoin, F., Cibils, L., Comini, M. A., Wilkinson, S. R., Flohé, L., Radi, R.: Insights into the redox biology of *Trypanosoma cruzi*: Trypanothione

- metabolism and oxidant detoxification. *Free Rad. Bio. Med.* **2008**, 45, 733 - 742.
- 51 Piacenza, L., Zago, M. P., Peluffo, G., Alvarez, M. N., Basombrio, M. A., Radi, R.: Enzymes of the antioxidant network as novel determiners of *Trypanosoma cruzi* virulence. *Int. J. Parasitol.* **2009**, 39, 1455 - 1464.
 - 52 Krauth-Siegel, R. L., Bauer, H., Schirmer, R. H.: Dithiolproteine als Hüter des intrazellulären Redoxmilieus bei Parasiten: alte und neue Wirkstoff-Targets bei Trypanosomiasis und Malaria. *Angew. Chem.* **2005**, 117, 698 - 724.
 - 53 Oza, S. L., Shaw, M. P., Wyllie, S., Fairlamb, A. H.: Trypanothione biosynthesis in *Leishmania major*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2005**, 139, 107 - 116.
 - 54 Oza, S. L., Chen, S., Wyllie, S., Coward, J. K., Fairlamb, A. H.: ATP-dependent ligases in trypanothione biosynthesis - Kinetics of catalysis and inhibition by phosphinic acid pseudopeptides. *FEBS* **2008**, 275, 5408 - 5421.
 - 55 Merkel, P.: Isolierung und Identifizierung der hauptaktiven antitrypanosomalen Komponente des Viperngiftes von *Eristocophis macmahoni* und ihre Effekte auf *Trypanosoma brucei*. Dissertation Universität Tübingen, **2007**, S. 13 ff.
 - 56 Sichhart, Y., Dräger, B.: Immunolocalisation of spermidine synthetase in *Olanum tuberosum*. *Phytochemistry* **2013**, 91, 117 - 121.
 - 57 Comini, M. A., Dirdjaja, N., Kaschel, M., Krauth-Siegel, R. L.: Preparative enzymatic synthesis of trypanothione and trypanothione analogues. *Int. J. Parasitol.* **2009**, 39, 1059 - 1062.
 - 58 Fyfe, P. K., Oza, S. L., Fairlamb, A. H., Hunter, W. N.: *Leishmania* trypanothione synthetase-amidase structure reveals a basis for regulation of conflicting synthetic and hydrolytic activities. *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 17672 - 17680.
 - 59 Koch, O., Cappel, D., Nocker, M., Jäger, T., Flohé, L., Sotfriffer, C. A., Selzer, P. M.: Molecular dynamics reveal binding mode of glutathionylspermidine by trypanothione synthetase. *PloS One* **2013**, 8, e56788.
 - 60 Fairlamb, A. H., Henderson, G. B., Cerami, A.: The biosynthesis of trypanothione and *N*¹-glutathionylsperimidine in *Crithidia fasciculata*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1986**, 21, 247 - 257.
 - 61 Henderson, G. B., Yamaguchi, M., Novoa, L., Fairlamb, A. H., Cerami, A.: Biosynthesis of trypanosomatid metabolite trypanothione: Purification and characterization of trypanothione synthetase of *Crithidia fasciculata*. *Biochemistry* **1990**, 29, 3924 - 3929.
 - 62 Comini, M. A., Flohé, L.: 9. Trypanothione-based redox metabolism of trypanosomatids In: *Trypanosomatid disease - Molecular routes to drug*

- discovery*. Jäger, T., Koch, O., Flohé, L., Selzer, P. M. (Hrsg), **2013**, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, S. 167 - 200.
- 63 Henderson, G. B., Ulrich, P., Fairlamb, A. H., Cerami, A.: Synthesis of trypanosomatid metabolites, and *N*¹-mono- and *N*⁸-mono-glutathionylspermidine. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 593 - 594.
 - 64 Oza, S. L., Wyllie, S., Fairlamb, A. H.: Mapping the functional synthetase domain of trypanothione synthetase from *Leishmania major*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2006**, 149, 117 - 120.
 - 65 Oza, S. L., Tetaud, E., Ariyanayagam, M. R., Warnon, S. S., Fairlamb, A. H.: A single enzyme catalyses formation of trypanothione from glutathione and spermidine in *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 35853 - 35861.
 - 66 Koch, O., Jäger, T., Flohé, L., Selzer, P. M.: 23. *Inhibition of trypanothione synthetase as a therapeutic concept* In: *Trypanosomatid disease - Molecular routes to drug discovery*. Jäger, T., Koch, O., Flohé, L., Selzer, P. M. (Hrsg), **2013**, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, S. 429 - 443.
 - 67 Flohé, L.: 12. *In search of trypanocidal drugs* In: *Drug discovery in infectious diseases: From molecular Targets to drug candidates*. Selzer, P. M. (Hrsg), **2009**, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, S. 211 - 227.
 - 68 Krauth-Siegel, R. L., Leroux, A. E.: Low-molecular-mass antioxidants in parasites. *Antioxid. Redox Signaling* **2012**, 17, 583 - 607.
 - 69 Comini, M. A., Guerrero, S. A., Haile, S., Menge, U., Lünsdorf, H., Flohé, L.: Validation of *Trypanosoma brucei* trypanothione synthetase as drug target. *Free Rad. Bio. Med.* **2004**, 36, 1289 - 1302.
 - 70 Spinks, D., Torrie, L. S., Thompson, S., Harrison, J. R., Frearson, J. A., Read, K. D., Fairlamb, A. H., Wyatt, P. G., Gilbert, I. H.: Design, synthesis and biological evaluation of *Trypanosoma brucei* trypanothione synthetase inhibitors. *ChemMedChem* **2012**, 7, 95 - 106.
 - 71 Aponte, J. C., Castillo, D., Estevez, Y., Gonzalez, G., Arevalo, J., Hammond, G. B., Sauvain, M.: In vitro and in vivo anti-*Leishmania* activity of polysubstituted synthetic chalcones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 100 - 103.
 - 72 Foroumadi, A., Emami, S., Sorkhi, M., Nakhjiri, M., Nazarian, Z., Heydari, S., Ardestani, S. K., Poorrajab, F., Shafiee, A.: Chromene-based synthetic chalcones as potent antileishmanial agents: Synthesis and biological activity. *Chem. Biol. Drug Des.* **2010**, 74, 590 - 596.
 - 73 Bello, M. L., Chiaradia, L. D., Dias, L. R. S., Pacheco, L. K., Stumpf, T. R., Mascarello, A., Steindel, M., Yunes, R. A., Castro, H. C., Nunes, R. J., Rodrigues, C. R.: Trimethoxy-chalcone derivatives inhibit growth of *Leishmania braziliensis*: Synthesis, biological evaluation, molecular modeling

- and structure-activity relationship (SAR). *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 5046 - 5052.
- 74 Ryczak, J., Papini, M., Lader, A., Nasereddin, A., Kopelyanskiy, D., Preu, L., Jaffe, C. L., Kunick, C.: 2-Arylpauellones are selective antitrypanosomal agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 64, 396 - 400.
 - 75 Reichwald, C. J., Shimony, O., Dunkel, U., Sacerdoti-Sierra, N., Jaffe, C. L., Kunick, C.: 2-(3-Aryl-3-oxopropen-1-yl)-9-*tert*-butyl-pauellones: A new antileishmanial chemotype. *J. Med. Chem.* **2008**, 11, 1255 - 1274.
 - 76 Kunick, C., Lauenroth, K., Wieking, K., Xie, X., Schultz, C., Gussio, R., Zaharevitz, D., Leost, M., Meijer, L., Weber, A., Jorgensen, F., Lemcke, T.: Evaluation and comparison of 3D-QSAR CoMSIA models for CDK1, CDK5, and GSK-3 inhibition by pauellones. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 22 - 36.
 - 77 Kunick, C., Zeng, Z., Gussio, R., Zaharevitz, D., Leost, M., Totzke, F., Schächtele, C., Kubbutat, M. H. G., Meijer, L., Lemcke, T.: Structure-aided optimization of kinase inhibitors derived from alsterpauellone. *ChemBioChem* **2005**, 6, 541 - 549.
 - 78 Grant, K. M., Dunion, M. H., Yardley, V., Skaltsounis, A.-L., Marko, D., Eisenbrand, G., Croft, S. L., Meijer, L., Mottram, J. C.: Inhibitors of *Leishmania mexicana* CRK3 cyclin-dependant kinase: Chemical library screen and antileishmanial activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, 48, 3033 - 3042.
 - 79 Hassan, P., Fergusson, D., Grant, K. M., Mottram, J. C.: The CRK3 protein kinase is essential for cell cycle progression of *Leishmania mexicana*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2001**, 113, 189 - 198.
 - 80 Grant, K. M., Hassan, P., Anderson, J. S., Mottram, J. C.: The CRK3 gene of *Leishmania mexicana* encodes a stage-regulated CDC2-related histone H1 kinase that associates with p12^{cks1}. *J. Biolog. Chem.* **1998**, 273, 10153 - 10159.
 - 81 Kohno, Y., Ochiai, K., Takita, S., Kojima, A., Kishi, T.: Pyridazinone derivative and PDE inhibitor containing the same as active ingredient. EP 2 168 959 A1, **2008**.
 - 82 Lauenroth, K.: Pauellonderivate mit veränderter heterozyklischer Grundstruktur als Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen. Dissertation Universität Hamburg, **2001**, S. 217 ff.
 - 83 Blackburn, C., Claiborne, C. F., Cullis, C. A., Dales, N. A., Patane, M., Stirling, M., Stradella, O. G., Weatherhead, G. S.: Lactam compounds useful as protein kinase inhibitors. WO 2006/041773 A2, **2006**.
 - 84 Achtermann, G., Ballard, T. M., Blasco, F., Broutin, P.-E., Büttelmann, B., Fischer, H., Graf, M., Haernandes, M.-C., Hilty, P., Knoflach, F., Koblet, A., Knust, H., Kurt, A., Martin, J. R., Masciadri, R., Porter, R. H. P., Stadler, H., Thomas, A. W., Trube, G., Wichmann, J.: Discovery of the imidazol[1,5-

- d[1,4]benzodiazepine scaffold as a novel, potent and selective GABA_A α 5 inverse agonist series. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 5746 - 5752.
- 85 Kling, A., Backfisch, G., Delzer, J., Geneste, H., Graef, C., Hornberger, W., Lange, U. E. W., Lauterbach, A., Seitz, W., Subkowski, T.: Design and synthesis of 1,5- and 2,5-substituted tetrahydrobenzazepinones as novel potent and selective integrin antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 11, 1319 - 1341.
- 86 Venuti, M. C., Ort, O.: Borane-methyl sulfide reductive cyclization of ω -ester alkylamide: A convenient synthesis of N-substituted cyclic amines. *Synthesis* **1988**, 12, 985 - 988.
- 87 Sattlegger, M., Buschmann, H., Przewosny, M., Englberger, W., Koegel, B.-Y., Schick, H.: Substituted benzo[b]azepin-2-one compounds. US 2004/0224938 A1, **2004**.
- 88 Kürti, L., Czako, B., *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*. 1. Auflage, Elsevier Inc., Burlington, **2005**, S. 196.
- 89 Robinson, G. M., Robinson, R.: C. - The mechanism of E. Fischer's synthesis of indoles. Application of the method to the preparation of an pyrindole derivative. *J. Chem. Soc., Abstracts* **1924**, 125, 827 - 840.
- 90 Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P., *Organic Chemistry*. 5. Auflage, Oxford University Press, Oxford, **2005**, S. 1321 ff.
- 91 Lauenroth, K.: Paullonderivate mit veränderter heterozyklischer Grundstruktur als Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen. Dissertation Universität Hamburg, **2001**, S. 205 ff.
- 92 Gu, W., Wang, S.: Synthesis and antimicrobial activities of novel 1*H*-dibenzo[a,c]carbazoles from dehydroabiatic acid. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 4692 - 4696.
- 93 Ishii, H.: Nucleophilic displacement of the methoxy group in abnormal Fischer indolization of 2-methoxyphenylhydrazones. *Acc. Chem. Res.* **1981**, 14, 275 - 283.
- 94 Bagmanov, B. T.: Effect of structural factors and solvent nature in bromination of anilines. *Russ. J. Appl. Chem.* **2009**, 82, 1570 - 1576.
- 95 Tolle, N. C.: 1-Benzazepinone mit neuartiger, heterozyklischer *d*-Anellierung als Proteinkinase-Inhibitoren: Synthese und biologische Charakterisierung. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2011**, S. 41.
- 96 Khazaei, A., Zolfigol, M. A., Kolvari, E., Koukabi, N., Soltani, H., Bayani, L. S.: Electrophilic bromination of alkenes, alkynes and aromatic amines with iodic acid/potassium bromide under mild conditions. *Syn. Commun.* **2010**, 40, 2954 - 2962.

- 97 Becker, H. G. O., Berger, W., Domschke, G., Fanghänel, E., Faust, J., Fischer, M., Gentz, F., Gewalt, K., Gulch, R., Mayer, R., Müller, K., Pavel, D., Schmidt, H., Schollberg, K., Schwetlick, K., Seiler, E., Zeppenfeld, G., *Organikum*. 22. Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, **2004**, S. 633.
- 98 Tolle, N. C.: 1-Benzazepinone mit neuartiger, heterozyklischer *d*-Anellierung als Proteinkinase-Inhibitoren: Synthese und biologische Charakterisierung. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2011**, S. 199.
- 99 Carlin, R. B.: Evidence of a 1,4-methyl migration during a Fischer reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 1259 - 1259.
- 100 Miller, B., Matjeka, E. R.: The mechanism of 1,4 migrations in the Fischer indole reaction. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 2, 131 - 134.
- 101 Robinson, B.: Recent studies on the Fischer indole synthesis. *Chem. Rev.* **1968**, 69, 227 - 250.
- 102 Robinson, B.: The Fischer indole synthesis. *Chem. Rev.* **1963**, 63, 373 - 401.
- 103 Luis, S. V., Burguette, M. I.: The Fischer indole synthesis of 8-methyl-5-substituted-1-oxo- β -carbolines: A remarkable high yield of a [1,2]-methyl migration. *Tetrahedron* **1991**, 47, 1737 - 1744.
- 104 Lauenroth, K.: Paullonderivate mit veränderter heterozyklischer Grundstruktur als Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen. Dissertation Universität Hamburg, **2001**, S. 206.
- 105 Humber, L. G., Ferdinandi, E., Demerson, C. A., Ahmed, S., Shah, U., Mobilio, D., Sabatucci, J., De Lange, B., Labbadia, F., Hughes, P., De Virgilio, J., Neumann, G., Chau, T. T., Weichmann, B. M.: Etodolac, a novel antiinflammatory agent. The syntheses and biological evaluation of its metabolites. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1712 - 1717.
- 106 Stukenbrock, H.: Design und Synthese neuartiger GSK-3-Inhibitoren: Wirkstoffe zur Protektion und Proliferationsstimulation pankreatischer beta-Zellen. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2008**, S. 179 ff.
- 107 Desroses, M., Wieckowski, K., Stevens, M., Odell, L. R.: A microwave-assisted, propylphosphonic anhydride (T3P^(R)) mediated one-pot Fischer indole synthesis. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 4417 - 4420.
- 108 Chen, W., Chen, W., Hu, Y.: Microwave-enhanced Fischer reaction: An efficient one-pot synthesis of γ -carbolines. *Synlett* **2008**, 77 - 82.
- 109 Okuda, S., Robison, M. M.: 7-Azaindole. V. Investigations of alternative syntheses of the ring system. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 740 - 743.
- 110 Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. 7. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2005**, S. 322.

- 111 Reichwald, C. J.: Eine neue Variante der Heck-Reaktion zur Darstellung antileishmanieller Paullone. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2008**, S. 106 - 130.
- 112 Ryczak, J.: Neue Paullone als Wirkstoffe gegen Leishmanien und Trypanosomen. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2012**, S. 61 - 70.
- 113 Reichwald, C. J.: Eine neue Variante der Heck-Reaktion zur Darstellung antileishmanieller Paullone. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2008**, S. 62 - 83.
- 114 Kuhnert, N., Le-Gresley, A.: Synthesis and capsule formation of upper rim substituted tetra-acrylamido calix[4]arenes. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 2175 - 2182.
- 115 Eriksson, J., Aberg, O., Langström, B.: Synthesis of [^{11}C]/[^{13}C]acrylamides by palladium-mediated carbonylation. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 455 - 461.
- 116 Reichwald, C. J.: Eine neue Variante der Heck-Reaktion zur Darstellung antileishmanieller Paullone. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2008**, S. 148.
- 117 Larhed, M., Hallberg, A.: Microwave-promoted palladium-catalyzed coupling reactions. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 9582 - 9584.
- 118 Hajipour, A. R., Karami, K., Pirisedigh, A.: Accelerated Heck reaction using ortho-palladated complex with controlled microwave heating. *Appl. Organometal. Chem.* **2009**, 23, 504 - 511.
- 119 Zhang, Y., Lv, Z., Zhong, H., Zhang, M., Zhang, T., Zhang, W., Li, K.: Efficient Heck cross-coupling of 3-iodo-benzopyrones with olefins under microwave irradiation without phosphine. *Tetrahedron* **2012**, 68, 9777 - 9787.
- 120 Nammalwar, B., Bunce, R. A., Berlin, K. D., Bourne, C. R., Bourne, P. C., Barrow, E. W., Barrow, W. W.: Microwave-assisted Heck synthesis of substituted 2,4-diaminopyrimidine-based antibiotics. *Org. Prep. Proc. Int.* **2012**, 44, 281 - 287.
- 121 Yilmaz, Ü., Sireci, N., Deniz, S., Kücükbay, H.: Synthesis and microwave-assisted catalytic activity of novel bis-benzimidazole salts bearing furfuryl and thenyl moieties in Heck and Suzuki cross-coupling reactions. *Appl. Organometal. Chem.* **2010**, 24, 414 - 420.
- 122 van Marle, C. M., Tollens, B.: Formaldehyde derivatives of acetophenone. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1903**, 36, 1251 - 1257.
- 123 Prühs, C.: Strukturmodifikationen und Affinitätsuntersuchungen zur Aufklärung des Wirkmechanismus von Darponen. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2007**, S. 54 ff.

- 124 Reichwald, C. J.: Eine neue Variante der Heck-Reaktion zur Darstellung antileishmanieller Paullone. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2008**, S. 85 ff.
- 125 Li, Q., Zu, Y., Shi, R., Yao, L., Fu, Y., Yang, Z., Li, L.: Synthesis and antitumor activity of novel 10-substituted camptothecin analogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 14, 7175 - 7182.
- 126 Liu, H., Zhou, Y., Yang, Y., Wang, W., Qu, L., Chen, C., Liu, D., Zhang, D., Zhu, D.: Photo-pH dually modulated fluorescence switch based on DNA spatial nanodevice. *J. Phys. Chem.* **2008**, 112, 6893 - 6896.
- 127 Andriani, G., Amata, E., Beatty, J., Clements, Z., Coffey, B. J., Coutemanche, G., Devine, W., Erath, J., Juda, C. E., Wawrzak, Z., Wood, J. T., Lepesheva, G., Rodriguez, A., Pollastri, M. P.: Antitrypanosomal lead discovery: Identification of a ligand-efficient inhibitor of *Trypanosoma cruzi* CYP51 and parasitic growth. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 2556 - 2567.
- 128 Anandan, S.-K., Webb, H. K., Do, Z. N., Gless, R. D.: Unsymmetrical non adamantyl *N,N*-diaryl urea and amide inhibitors of soluble epoxide hydrolase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4259 - 4263.
- 129 Marzaro, G., Guiotto, A., Pastorini, G., Chilin, A.: A novel approach to quinazolin-4(3*H*)-one via quinazoline oxidation: an improved synthesis of 4-anilinoquinazolines. *Tetrahedron* **2010**, 66, 962 - 968.
- 130 Knesl, P., Rösling, D., Jordis, U.: Improved synthesis of substituted 6,7-dihydroxy-4-quinazolineamines: Tandutinib, Erlotinib and Gefitinib. *Molecules* **2006**, 11, 286 - 297.
- 131 Schlapbach, A., Heng, R., Di Padova, F.: A novel Pd-catalyzed cyclization reaction of ureas for the synthesis of dihydroquinazolinone p38 kinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 357 - 360.
- 132 Lüth, A., Löwe, W.: Synthese of 4-(indole-3-yl)quinazolines - A new class of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1478 - 1488.
- 133 Introduction to the data analysis of the Roche xCELLigenceTM system with RTCA package, <http://www.bioconductor.org/packages/2.12/bioc/vignettes/RTCA/inst/doc/aboutRTCA.pdf>, abgerufen am 26.07.2013.
- 134 Lindl, T., Gstraunthaler, G., *Zell- und Gewebeskulturen*. 6. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2008**, S. 253 ff.
- 135 Mosmann, T.: Rapid colorimetric Assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55-63.

- 136 Muelas-Serrano, S., Nogal-Ruiz, J. J., Gómez-Barrio, A.: Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigote. *Parasitol. Res.* **2000**, 86, 999 - 1002.
- 137 D'Angelo, E., Crutchfield, J., Vandiviere, M.: Rapid, sensitive, microscale determination of phosphate in water and soil. *J. Environ. Qual.* **2001**, 30, 2206 - 2209.
- 138 O'Toole, M., Lau, K. T., Shepherd, R., Slater, C., Diamond, D.: Determination of phosphate using a highly sensitive paired emitter-detector diode photometric flow detector. *Analytica Chimica Acta* **2007**, 597, 290 - 294.
- 139 Maehama, T., Taylor, G. S., Slama, J. T., Dixon, J. E.: A sensitive assay for phosphoinositide phosphatases. *Anal. Biochem.* **2000**, 279, 248 - 250.
- 140 Attin, T., Becker, K., Hanning, C., Buchalla, W., Wiegand, A.: Suitability of a malachite green procedure to detect minimal amounts of phosphate dissolved in acidic solutions. *Clin. Oral Invest.* **2005**, 9, 203 - 207.
- 141 Armarego, W. L. F., Chai, C. L. L., *Purification of laboratory chemicals*. 5. Auflage, MPG Books, Bodmin, **2003**, S. 198, 361, 370.
- 142 Becker, H. G. O., Berger, W., Domschke, G., Fanghänel, E., Faust, J., Fischer, M., Gentz, F., Gewalt, K., Gulch, R., Mayer, R., Müller, K., Pavel, D., Schmidt, H., Schollberg, K., Schwetlick, K., Seiler, E., Zeppenfeld, G., *Organikum*. 22. Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, **2004**, S. 747.
- 143 Fox, H. H.: Synthetic tuberculostats. II. Amino- and hydroxypyridine carboxylic acid derivatives. *J. Org. Chem.* **1952**, 17, 547 - 554.
- 144 Hunsberger, I. M., Shaw, E. R., Fugger, J., Ketcham, R., Lednicer, D.: The preparation of substituted hydrazines. IV. Arylhydrazines via conventional methods. *J. Org. Chem.* **1956**, 21, 394 - 399.
- 145 Reichwald, C. J.: Eine neue Variante der Heck-Reaktion zur Darstellung antileishmanieller Paullone. Dissertation Technische Universität Braunschweig, **2008**, S. 167.
- 146 Schultz, C., Link, A., Leost, M., Zaharevitz, D., Gussio, R., Sausville, E. A., Meijer, L., Kunick, C.: Paullones, a series of cyclin-dependent kinase inhibitors: Synthesis, evaluation of CDK1/Cyclin B inhibition, and in vitro antitumor activity. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 2909 - 2919.
- 147 Biebinger, S., Wirtz, L. E., Lorenz, P., Clayton, C.: Vectors for inducible expression of toxic gene products in bloodstream and procyclic *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, 85, 99 - 112.
- 148 Hirumi, H., Hirumi, K.: Continuous cultivation of *T.b.* blood stream forms in a medium containing at low concentration of serum protein without feeder cell layers. *J. Parasitol.* **1989**, 75, 985 - 989.

- 149 Oza, S. L., Ariyanayagam, M. R., Aitcheson, N., Fairlamb, A. H.: Properties of trypanothione synthetase from *Trypanosoma brucei*. *J. Biol. Chem.* **2003**, 131, 25 - 33.
- 150 Peacock, C. S., Seeger, K., Harris, D., Murphy, L., Ruiz, J. C., Quail, M. A., Peters, N., Adlem, E., Tivey, A., Aslett, M., Kerhornou, A., Ivens, A., Fraser, A., Rajandream, M.-A., Carver, T., Norbertczak, H., Chillingworth, T., Hance, Z., Jagels, K., Moule, S., Ormond, D., Rutter, S., Squares, R., Whitehead, S., Rabinowitsch, E., Arrowsmith, C., White, B., Thurston, S., Bringaud, F., Baldauf, S. L., Faulconbridge, A., Jeffares, D., Depledge, D. P., Oyola, S. O., Hilley, J. D., Brito, L. O., Tosi, L. R. O., Barrell, B., Cruz, A. K., Mottram, J. C., Smith, D. F., Berriman, M.: Comparative genomic analysis of three *Leishmania* species that causes diverse human disease. *Nature Genetics* **2007**, 39, 839 - 847.
- 151 Comini, M., Menge, U., Wissing, J., Flohé, L.: Trypanothione synthesis in *Crithidia* revisited. *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 6850 - 6860.
- 152 Krauth-Siegel, R. L., Comini, M. A.: Redox control in trypanosomatids, parasitic protozoa with trypanothione-based thiol metabolism. *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, 1780, 1236 - 1248.
- 153 Torrie, L. S., Wyllie, S., Spinks, D., Oza, S. L., Thompson, S., Harrison, J. R., Gilbert, I. H., Wyatt, P. G., Fairlamb, A. H., Frearson, J. A.: Chemical validation of *Trypanothione Synthetase* - A potential drug target for human trypanosomiasis. *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 36137 - 36145.
- 154 Taylor, M. C., Kaur, H., Blessington, B., Kelly, J. M., Wilkinson, S. R.: Validation of spermidine synthase as a drug target in African trypanosomes. *Biochem. J.* **2008**, 409, 563 - 569.
- 155 Reguera, R. M., Balana-Fouce, R., Showalter, M., Hickerson, S., Beverley, S. M.: *Leishmania major* lacking arginase (ARG) are auxotrophic for polyamines but retain infectivity to susceptible BALB/c mice. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2009**, 165, 48 - 56.
- 156 Ariyanayagam, M. R., Fairlamb, A. H.: Diamine auxotrophy may be a universal feature of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, 84, 111 - 121.

Anhang

Gefahrstoffverzeichnis

Alle verwendeten Chemikalien und Gefahrstoffe sind unter Beachtung der Gefahren- und Sicherheitshinweise (H- und P-Sätze, *hazard and precautionary statements*) zu handhaben. Bei den im Folgenden aufgeführten Chemikalien sind besondere Gefahren zu beachten. Die Kennzeichnung und Einstufung der Substanzen richtet sich nach der CLP-Verordnung (*Regulation on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures* - Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen).

Acrylsäurechlorid

Gefahrenpiktogramme: GHS02, GHS05, GHS06, GHS09

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweise: H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar; H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein; H330: Lebensgefahr beim Einatmen; H302+H312: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt; H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden; H400: Sehr giftig für Wasserorganismen; EUH014: Reagiert heftig mit Wasser.

Sicherheitshinweise: P210: Vor Hitze schützen; P280: Schutzhandschuhe/ Schutzbekleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen; P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden; P301+P330+P331: Bei Verschlucken: Mund ausspülen. Kein Erbrechen herbeiführen; P304+P340: Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert; P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter Spülen; P309+P310: Bei Exposition oder Unwohlsein: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

Anilin und Derivate

Gefahrenpiktogramme: GHS05, GHS06, GHS08, GHS09

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweise: H301: Giftig beim Verschlucken; H311: Giftig beim Hautkontakt; H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen; H318: Verursacht schwere

Augenschäden; H331: Giftig beim Einatmen; H341: Kann vermutlich genetische Defekte verursachen; H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen; H372: Schädigt die Organe bei längerer oder wiederholter Exposition; H400: Sehr giftig für Wasserorganismen.

Sicherheitshinweise: P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden; P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen; P308+P313: Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen; P302+P352: Bei Kontakt mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen; P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen; P309+P310: Bei Exposition oder Unwohlsein: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

Benzylamin

Gefahrenpiktogramme: GHS05, GHS07

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweise: H302+H312: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt; H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

Sicherheitshinweise: P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen; P301+P330+P331: Bei Verschlucken: Mund ausspülen. Kein Erbrechen herbeiführen; P302+P352: Bei Kontakt mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen; P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen; P309+P310: Bei Exposition oder Unwohlsein: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.

Brom

Gefahrenpiktogramme: GHS05, GHS06, GHS09

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweise: H330: Lebensgefahr beim Einatmen; H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden; H400: Sehr giftig für Wasserorganismen.

Sicherheitshinweise: P210: Vor Hitze schützen; P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden; P304+P340: Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert; P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen; P309+P310: Bei Exposition oder Unwohlsein: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen; P403+P233: Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

Chlorwasserstoff (g)

Gefahrenpiktogramme: GHS04, GHS05, GHS06

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweise: H331: Giftig beim Einatmen; H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden; H280: Enthält Gas unter Druck, kann bei Erwärmung explodieren; EUH071; Wirkt ätzend auf die Atemwege.

Sicherheitshinweise: P260: Gas/Dampf nicht einatmen; P280: Schutzhandschuhe/ Schutzbekleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen; P304+P340+P315: Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Sofort ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen; P303+P361+P353+P315: Bei Kontakt mit der Haut (oder dem Haar): Alle verschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. Sofort ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen; P305+P351+P338+P315: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Sofort ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen; P405: Unter Verschluss aufbewahren; P403: An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

Dichlormethan

Gefahrenpiktogramme: GHS08

Signalwort: Achtung

Gefahrenhinweise: H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen.

Sicherheitshinweise: P260: Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen; P281: Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung; P308 +P313: Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

N,N-Dimethylformamid

Gefahrenpiktogramme: GHS02, GHS07, GHS08

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweise: H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar; H312: Gesundheitsschädlich beim Hautkontakt; H319: Verursacht schwere Augenreizung; H332: Gesundheitsschädlich bei Einatmen; H360D: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.

Sicherheitshinweise: P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen; P210: Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen; P301+P310: Bei Verschlucken: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen; P302+P352: Bei Kontakt mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen; P304+P340: Bei Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert; P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Tetrachlokohlenstoff

Gefahrenpiktogramme: GHS06, GHS07

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweis: H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen; H331: Giftig bei Einatmen; H301: Giftig bei Verschlucken; H311: Giftig bei Hautkontakt; H372: Schädigt die bei längerer oder wiederholter Exposition; H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung; H420: Schädigt die öffentliche Gesundheit und die Umwelt durch Ozonabbau in der äußeren Atmosphäre.

Sicherheitshinweise: P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden; P281: Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden; P314: Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Tetrahydrofuran

Gefahrenpiktogramme: GHS02, GHS07

Signalwort: Gefahr

Gefahrenhinweis: H225+EUH019: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. Kann explosionsfähige Peroxide bilden; H319: Verursacht schwere Augenreizungen; H335: Kann die Atemwege reizen.

Sicherheitshinweise: P210: Vor Hitze schützen; P233: Behälter dicht verschlossen halten; P243: Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladung treffen; P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Danksagung

Für die Durchführung der biologischen Testungen möchte ich mich bei Herrn Dr. C. Hölscher vom Forschungszentrum Borstel und seinen Mitarbeitern sowie Herrn M. Comini und seinen Mitarbeitern vom Institut Pasteur de Montevideo in Uruguay bedanken.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern der analytischen Abteilungen für die Anfertigung sämtlicher Spektren. Dem Team um Frau Dr. K. Ibrom aus dem Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren und dem Team um Dr. U. Papke, ebenfalls aus dem Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig, für die Durchführung der massenspektrometrischen Untersuchungen. Den Mitarbeiterinnen der Analytischen Abteilung des Instituts für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der TU Braunschweig, Frau B. Babic, Frau S. Meyer und Frau P. Reich, gilt mein Dank für die Anfertigung der FT-IR-Spektren, der Elementaranalysen sowie die Probenvorbereitung für die NMR-Experimente.

Herrn K. Hartmann und M. Söchtig danke ich für die Ausgabe von Glasgeräten und Chemikalien und den stetigen Informationsfluss. Bei Herrn F. Roese möchte ich mich für die Reparaturen zahlreicher elektrischer Geräte bedanken. Für die Rundumsorge der Vakuumpumpen und Regalbauten danke ich Herrn E. Hinz. Des Weiteren möchte ich mich bei Frau B. Thomas und Frau D. Grimm bedanken.

Meiner wissenschaftlichen Hilfskraft Frau M. Cohrs sei für ihre unterstützende Tätigkeit im Labor gedankt.

Für die angenehme und kollegiale Zusammenarbeit sowie der freundlichen Arbeitsatmosphäre möchte ich mich bei den ehemaligen und gegenwärtigen Mitarbeitern des Arbeitskreises bedanken. Insbesondere danke ich Frau R. Korn für die überausgute Zusammenarbeit, jede Menge hilfreiche Tipps und verdammt viel Spaß.

Zudem möchte mich an dieser Stelle bei Herrn Prof. Dr. I. Ott, Herrn Dr. J. Grünefeld und den Kollegen des 2. Semesters für die gute und freundschaftliche

Zusammenarbeit im Praktikum „Quantitative Bestimmung von Arznei-, Hilfs- und Schadstoffen“ bedanken.

Für das Korrekturlesen danke ich besonders Ricarda, Johann, Steffi, Anne, Hannes und Christian.

Bei meinen Freunden möchte ich mich bedanken, weil sie immer ein offenes Ohr für mich haben. Doch der wohl größte Dank gilt meinen Eltern für die Ermöglichung des Studiums sowie für ihre stetige Hilfsbereitschaft in immateriellen und materiellen Angelegenheiten.